Vol. III Giugno 1931 - A. IX Fasc. VI

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

# BOLLETTINO

DELLA

# SEZIONE ITALIANA

## SOMMAIRE

# ARTURO PRIMAVERA

L'8 avril passé, décedait à Naples le Prof. ARTURO PRIMAVERA, fils de GAETANO PRIMAVERA, — le regretté précurseur de la Biochimique en Italie — qui avait cultivé cette science avec la valeur la plus grande.

A. PRIMAVERA suivit, dès sa jeunesse, les études de son pére, en apprenant directement de Lui, non seulement les fondements de la Biochimique, mais aussi le dévouement au travail et l'amour pour la Science, de sorte que, lorsque son père mourut, le jeune étudiant avait déjà atteint un degré de maturité scientifique et morale vraiment inaccoutumé chez les jeunes gens de son âge.

Après avoir achevé les études universitaires avec de brillants résultats, il se consacra passionnément aux études de Chimique Clinique, soit dans le champ pratique — chez l'Hôpital Cotugno d'abord, et ensuite chez les Hôpitaux Réunis de Naples — soit dans le champ scientifique.

En 1913 il fut chargé de l'Enseignement Libre en Chimique Clinique.

Nous lui sommes rédevables d'une trentaine de travaux expérimentaux de Chimique Clinique pure et appliquée aux maladies infectieuses et d'une oeuvre très importante sur l'acide urique.

Son activité professionnelle de médecin ne fut pas moin vaste, et c'est précisément en expliquant cette tâche qu'il eut l'occasion de montrer toujours son habileté et son expérience aussi bien que la beauté de ses qualités morales.

ARTURO PRIMAVERA fut, en effet, un savant scrupuleux et un médecin habile, mais encore un caractère très noble. La grandeur de cette Ame fut caractérisée par un fort attachement à sa famille et à son devoir, par un désintéressement vraiment rare, et par une immense bonté.

C. A.

## MAZZUCCHI M. - **Le nouveau vaccin anti-charbonneux "Carbozoo„ dans sa constitution et dans ses applications pratiques.**

En étudiant, depuis plusieurs années, le mécanisme pathogénique de l'infection charbonneuse, je m'étais convaincu que pour obtenir une immunité active solide il aurait fallu vacciner, moyennant des germes et des spores vivants et virulents.

Les vaccins que l'on emploie généralement, sont tout à fait innéficaces lorsqu'ils sont trop atténués, tandis que s'ils sont virulents ils peuvent être bien souvent dangereux.

C'est pourquoi j'ai tâchéde rechercher une substance laquelle, tout en n'atténuant pas les germes, aurait pu en empêcher, totalement ou partiellement, la diffusion dans l'organisme hôte.

Au cours de cette recherche je me suis particulièrement adressé vers des substances ayant une action hémolytique, car, d'un côté elles déterminaient dans l'animal des lésions dont le tableau anatomo-pathologique était semblable à celui des lésions provoquées par le bacille charbonneux et, vraisemblablement, elles excitaient aussi des réactions défensives du même type; de l'autre côté, tout en n'atténuant pas la virulence des germes composant le vaccin, elles en empêchaient la diffusion dans l'organisme, grâce à la formation rapide d'une barrière défensive.

J'ai demandé alors a M. le Directeur de l'Institut Prof. Belfanti, profond connaiseur de certaines substances hemolytiques organiques l'autorisation a procéder aux expériences avec une saponine très pure (*saponinum purissimun album*) substance d'action constante, très facile a doser et bien stable en solution. Je m'empresse de lui exprimer ici toute ma reconnaissance pour l'appoui, qu'il a bien voulu me donner dans toutes les épreuves de mes travaux.

La saponine n'est pas une substance inconnue: ses propriétés ont été étudiées par plusieurs rechercheurs et spécialement, dès le 1887, par Kobert. Elle appartient au groupe des glucosides d'origine végétale, elle est constituée surtout de carbone, d'hydrogène et d'oxygène et elle est très répandue dans les plantes, notamment dans leurs racines.

D'après Kobert il existe deux espèces de saponine: l'une qui est acide et insoluble dans l'eau, l'autre qui est soluble dans l'eau et excessivement toxique, de sorte qu'on l'appelle « sapotoxine ». Cette dernière aurait plusieurs points de contact avec l'ophiotoxine rencontrée par Faust dans le venin de cobra.

À propos des propriétés de la saponine, je parlerai ici seulement de celles qui se rapportent au cas dont il est question.

*Actions sur le sang.* La saponine employée à petites doses dans les épreuves *in vitro* favorise la coagulation de la masse sanguigne, dissout les plaquettes et les leucocytes. Ces derniers, suivant Neufeld et Prowazek, deviennent immobiles et ensuite ils se dissoutent, en laissant presque intacte la trame avec le noyau bien visible. *In vivo*, consécutivement à une injection intraveineuse de la substance, on observe la diminution des érythrocites et de l'émoglobine et une normo-blastose considérable. Le résultat observé sur le point d'inoculation et rapporté par Gaisböck et Bayer est très intéressant; on observe précisément une hémolyse locale et une diminution remarquable des érythrocytes. Les leucocytes, au contraire, augmentent immédiatement après l'injection. En effet dès le même jour de l'injection, on constate une augmentation des cellules pseudo-éosinophiles en raison du 234%; l'augmentation des lymphocytes est plus lente et c'est seulement le lendemain de l'injection, qu'elle atteint le pourcentage de 200%.

Lorsque la saponine est administrée *per os*, elle ne produit pas des effets remarquables, car il paraît qu'elle ne passe pas à travers la paroi de l'estomac. L'*injection intraveineuse* (gr. 0,1) tue l'animal d'expérience (chat) en peu de minutes, par suite d'une paralysie respiratoire.

L'*injection sous-cutanée* de la substance, dans les mammifères, détermine des faits inflammatoires prononcés, la formation d'oedèmes étendus et, souvent, même des processus purulents et de la nécrose. Dans le tissu connectif sous-cutané on a, parfois, une infiltration gélatineuse.

La saponine n'apporte aucun préjudice aux microrganismes; on dirait même qu'elle en favorise la croissance; en outre, — ce qui est très important — les bacilles et les spores du charbon gardent, dans ce mélange, leurs caractères de virulence et leur pouvoir antigène intacts.

L'addition de bacilles et de spores du charbon virulents, à ce mélange, forme ce complexus vaccinal qui prend le nom de « Carbozoo »; la quantité de saponine qui est présente dans le mélange peut aussi correspondre au 10% et elle est bien tolerée même à la dose de 2 cmc., administrée par la voie sous-cutanée aux animaux de taille moyenne et grande.

Le « Carbozoo » détermine, au bout d'une courte période, un oedème à caractère gélatineux, qui se manifeste dans le tissu sous-cutané; l'évolution de cet oedème est rapide; il est suivi par une infiltration plus consistante, après laquelle on peut avoir la guérison accompagnée de la formation d'une escarre ou, ainsi qu'il arrive plus fréquemment et plus utilement, d'une réabsorption très lente de l'exsudat et de sa transformation en une petite masse connectivale.

Les lésion provoquées par le vaccin, — semblables aux lésions pro-

voquées en premier temps par les bacilles charbonneux — ne dépassent pas la phase susdite; on n'observe jamais de septicémie charbonneuse et l'animal, sauf quelques élévations thermiques initiales, ne montre aucun signe de souffrance.

La présupposition théorique suivant laquelle la substance additionnée au germe provoquerait la formation d'une barrière empêchant la diffusion de l'infection, et cette réaction de l'organisme, dans son essence intime, ne serait autre chose qu'une réaction exaltée du type de celle que l'on observe au cours de l'infection charbonneuse, trouve ici sa confirmation la plus suggestive.

L'expérience devait nous montrer encore si les germes contenus dans le mélange gardent intactes toutes leurs propriétés de virulence et leur valeur antigène.

Et l'expérience nous a confirmé effectivement, les deux faits.

Même à bout de deux années, le bacille charbonneux et ses spores contenus dans le « Carbozoo » restent vivants et virulents et gardent presqu'intactes leurs aptitudes d'antigène.

Quant à la valeur vaccinante du « Carbozoo » elle a été bien démontrée, non seulement par les nombreuses expériences pratiquées par moi même à l'Institut Sérothérapique de Milan, sur des animaux de taille petite et moyenne, mais aussi par les nombreuses vaccinations faites dans ces dernières années. Les unes et les autres confirment complètement soit l'innocuité du vaccin, soit son pouvoir vaccinant très élevé.

Et de même les vaccinations anti-charbonneuses que M. le Dr. Santarelli pratiqua dans la Vallée de la Lucania au commencement de 1930, portent une large contribution d'observations, avec des résultats toujours satisfaisants qui se rapportent à un très grand nombre d'animaux de l'espèce bovine, ovine et caprine.

Ensuite, ces vaccinations ont été pratiquées sur une vaste échelle, dans tous les côtés de notre péninsule, dans la Sardaigne, dans la Sicile, dans les Colonies, chez des animaux à stabulation permanente, et dans la Campagne de Rome, chez des animaux à l'état libre, appartenant à des races diverses et ayant des aptitudes différentes; et l'on a toujours obtenu d'excellents résultats.

Les sujets vaccinés ont atteint, en 1930, le chiffre de 300.000 et pendant le trimestre mars-avril-mai 1931 on a dépassé les 230.000 animaux soumis à la vaccination; il y a donc une proportion plus que double en comparaison de l'année précédente.

On n'a jamais eu connaissance de cas mortels imputables au vaccin, ni de cas d'infection charbonneuse consécutifs à la vaccination, soit dans les zones indemnes, soit dans les localités infectées.

Ces données, ainsi que celles qui ont déjà paru dans mes publications précédentes, nous laissent bien espérer que les animaux vaccinés aient acquis un haut degré d'immunité, tel à les protéger longtemps contre la maladie.

On peut donc affirmer que le vaccin « Carbozoo » s'est imposé desormais, dans la pratique vétérinaire, en Italie et qu'il va se repandre aussi à l'étranger, grâce à ses qualités d'innocuité et à son activité vaccinant. Il apporte une contribution extrèmement importante au problème de la vaccination anti-charbonneuse; je dirai même qu'il constitue un fait nouvel dans la tecnique de la vaccination, car, tout en n'altérant aucunement les propriétés du germe (vitalité, virulence, pouvoir antigène) dont il est composé, il permet d'obtenir, dans la pratique, le *maximum* des résultats.

Ce n'est qu'à présent que j'ai voulu faire connaître la composition du vaccin, car j'ai estimé opportun qu'il fut soumis d'abord au contrôle le plus rigoureux et le plus complet, de la part des Autorités Sanitaires et de mes Collègues Vétérinaires. Maintenant, comme il reçu la sanction de l'expérience sur une vaste échelle, je ne veux pas garder ultérieurement le silence à propos de la composition, car je ne voudrais jamais en entraver la diffusion.

*Institut Sérothérapique de Milan. Section de Vétérinaire.*

---

OTTOLENGHI R. – **Sur les modifications induites de diètes avitaminique particulières sur la flore microbienne de la cavité buccale.** Recherches expérimentales.

De très nombreuses recherches ont été faites dans ces dernières années, à propos de l'influence de l'avitaminose sur le développement des dents, étant donné que ces dernières sont très sensibles au défaut des vitamines, lesquelles sont indispensables pour le développement normal des dents et pour leur conservation.

Des recherches sur le rachitisme ont été faites par Zamorani, Perna, Cavallaro et, récemment, avec un travail expérimental de Fasoli; je rappellerai encore les expériences de Mellanby, Walkhoff, Crosseec, Mc Collum et de beaucoup d'autres.

Outre les modifications induites de la diète et capables de provoquer des lésions dentaires (déjà décrites minutieusement par les AA. cités) j'ai voulu étudier s'il n'y aurait pas, en même temps, des modifications dans la flore buccale.

Je dirai de suite que la littérature concernant les modifications de la flore micronienne buccale, dépendant des avitaminoses, est, sinon complètement nulle, certainement très restreinte.

Par le présent travail j'ai voulu étudier la manière de se comporter de la flore microbienne de la cavité buccale en corrélation avec l'avitaminose expérimentale.

EXPERIENCE. — J'ai procédé de la manière suivante: je prélevais de la cavité buccale de rats et de cobayes en conditions normales, avec une ôse stérile, de la matière pour les ensemencements voulus (agar-malt; agar-ascite; agar-tapioca; agar-citron; agar-sang), Ensuite je procédais à l'identification bactérioscopique et bactériologique des germes isolés et en déterminais le pouvoir de fermentation par rapport aux saccharoïdes.

Je mettais a des diètes spéciales les animaux, à savoir: les rats blancs au régime 85 de Panneheimer, composé de:

| | |
|---|---|
| Farine de blé | 80,9 |
| Albumine d'oeuf | 10 |
| Beurre | 5 |
| Mélange salin | 4,1 |
| P. | 100 |

Le mélange salin est composé de: KCL — 0,85; $CO_3NA_3$ — 0,85; $CO_3Mg$ — 0.286; lactate de fer — 2; citrate de fer — 0,1; KL — 0,0002; $MnSO_2$ — 0.00078; NaFL — 0.00024; $SO_4K$ — 0,00024.

Je maintenais à ce régime de jeunes rats blancs d'environ un mois, du poids de 25-30 gr., qui avaient été nourris avec du lait et tenus dans de bonnes conditions d'hygiène. La nourriture était distribuée sous forme de poudre homogène et de l'eau, séparément, dans un petit récipient bien fixé à la cage. Pendant toute la durée des expériences les rats étaient dans 'obscurité. Je maintenais ensuite les cobayes à un régime de carence de vitamine C. Je les maintenais à un régime composé de foin stérilisé et d'eau pure stérilisée.

Je prélevais ensuite de la cavité buccale de ces animaux, tenus à des diètes spéciales, du matériel que je semais de la manière précédemment dite; je procédais à l'identification des germes isolés et en déterminais le pouvoir de fermentation par rapport aux saccharydes. Cex bactéries étaient difficilement identifiables s'agissant pour la plupart de formes saprofitiques; toutefois, cela n'entravait pas le but poursuivi en m'étant proposé d'étudier la flore microbienne en ce qui concerne l'activité biochimique des germes au point de vue des effets des avitaminoses.

De l'ensemble des recherches j'ai vu que l'activité biologique des germes de la cavité buccale chez les rats et chez les cobayes, en conditions normales et en avitaminose (carence de vitamine C pour le cobayes et de vitamine D pour le rat), soit dans l'un cas comme dans l'autre est réduite par rapport à son pouvoir de fermentation vis-à-vis des divers hydrocarbonates, lorsque l'animal est soumis à une diète avitaminique.

*Institut de Bactériologie et d'Immunologie de l'Université Royale de Turin - Laboratoire de recherches scientifiques de l'Hôpital Maria Vittoria.*

---

VERONA O. et BAJ E. – **Sur la microflore et l'activité microbiochimique des terrains du Massetano.**

Dans une précédente note l'un de nous a fait connaître le but des présentes recherches que l'on poursuit depuis quelques années sur la bactériologie des terrains côtiers de la Toscane, spécialement de la Maremme, zone quelque peu singulière, même au point de vue agronomique. Dans la note présente sont exposés les résultats relatifs et les analyses faites sur les terrains du territoire de Massa.

Quatre échantillons ont été prélevés dans le sol et le sous-sol, et plus précisément quelques-uns (échant. 1 et 2) en formation se rapportant à la periode quateénaire ancienne avec des galets et des conglomérats ocrés; d'autres (3) au trias supérieur avec des schistes filamenteux gris, jaspés et aréneux: d'autres enfin (4) au permien, qui est la formation la plus ancienne, avec des anagénites talcaires, des micaschistes et des schistes gneissiques. Il s'agit donc de terrains de différentes âges et origines dont les caractères physico-chimiques et de culture sont également divers; ils sont toutefois, en général, très riches en squelette, sablonneux dans la partie fine, peu riches en calcium et en substances organiques, et sont plus ou moins sensiblement acides.

L'examen quantitatif exécuté au moyen de la numération des germes développés sur des plaques à l'agar-haricots et à l'agar-peptone et les résultats obtenus pendant une période d'un an ont été les suivants:

| Numéro des échantillons | Automne | | Hiver | | Printemps | | Eté | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | agar-haricots | agar-peptone | agar-haricots | agar-peptone | agar-haricots | agar-peptone | agar-haricots | agar-peptone |
| 1. – Sol....... | 310.000 | 450.000 | 490.000 | 570.000 | 1.300.000 | 440.000 | 430.000 | 580.000 |
| Sous-sol .. | 1.100.000 | 650.000 | 480.000 | 280.000 | 700.000 | 170.000 | 1.010.000 | 180.000 |
| 2. – Sol....... | 1.250.000 | 1.100.000 | 260.000 | 380.000 | 850.000 | 170.000 | 790.000 | 570.000 |
| Sous-sol .. | 1.100.000 | 900.000 | 100.000 | 470.000 | 640.000 | 80.000 | 500.000 | 80.000 |
| 3. – Sol....... | 1.000.000 | 660.000 | 500.000 | 430.000 | 1.410.000 | 850.000 | 830.000 | 1.000.000 |
| Sous-sol .. | 800.000 | 200.000 | 190.000 | 150.000 | 380.000 | 110.000 | 770.000 | 900.000 |
| 4 – Sol | 170.000 | 190.000 | 130.000 | 170.000 | 3.900.000 | 1.500.000 | 380.000 | 270.000 |
| Sous-sol .. | 800.000 | 250.000 | 140.000 | 200.000 | 3.650.000 | 110.000 | 160.000 | 360.000 |

Ainsi qu'on le constate par les chiffres ci-dessus, il s'agit de terrains à régime micro-organique inconstant, soit au point de vue des divers terrains entr'eux, soit au point de vue de la profondeur, soit enfin, des différentes saisons. Pour ces dernières, quoiqu'il en soit, on observe, en principe, que la plus grande augmentation numérique a lieu en automne et au printemps. En été, contrairement à ce que l'on constate dans la Maremme, l'augmentation n'a pas lieu dans tous les terrains; au contraire, dans un grande nombre, on a une diminution considérable. Le fait par lequel dans la Maremme (Talamone, Grosseto, ainsi que Pise) le chiffre le plus élevé en microbes est constaté pendant la période d'été, semble être une caractéristique de cette zone et dépendant des conditions climatologiques et pédologiques dans lesquelles elle vient à se trouver.

Pour l'examen qualitatif on a utilisé les cultures qui se sont développées sur les plaques qui avaient déjà servi au nombrement. Pendant l'automne on eut une forte prédominance de Schizomycètes, presque tous non chromogènes: le contenu en Hyphomycétes a été très faible. La présence de ces derniers a été, au contraire, notable pendant l'hiver et en partie aussi au printemps; mais non pendant l'été; en cette saison ont prévalu les Schizomycètes. Au nombre des espèces les plus communes, on a trouvè le *Penicillium crustaceum* (L.) Fr. l'*Aspergillus* sp., le *Rhizopus* sp.; parmi les Schizomycètes, le *Fluorescens liquefaciens* Flügge, *Bact. chrysogloea* Zopf, *Bact. fulvum* (Zimm.) L. et N. [1]. *Bact. radiatum* Zimm.

L'investigation de l'activité biochimique a été faite relativement à la détermination des pouvoirs d'ammonisation, de nitrification, de dénitri-

---

[1] Il y a lieu de faire observer, au sujet de cette forme, que, suivant L. et N. la Bact. fulvum déterminerait la peptonisation du lait. Nos souches, au contraire, ne produisirent jamais dans le lait, même avec du temps, aucune modification.

fication et d'azoto fixation, Elle a été faite pour l'entière période annuelle, obtenant les résultats contenus dans le tableau suivant:

| Détermination | Numéro des échantillons | | Automne | Hiver | Printemps | Eté |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Pouvoir d'ammonisation* $NH_3$ mmg. par litre (moyenne de 4 analyses) | 1. – | Sol | 1.77225 | 1.58100 | 0.40800 | 0.71400 |
| | | Sous-sol | 1.78075 | 1.70350 | 0.38900 | 0.70125 |
| | 2. – | Sol | 1.63625 | 0.87975 | 0.32725 | 0.44200 |
| | | Sous-sol | 1.30900 | 0.86275 | 0.34850 | 0.53975 |
| | 3. – | Sol | 1.72550 | 1.25375 | 0.39100 | 0.81600 |
| | | Sous-sol | 1.81050 | 1.21550 | 0.34000 | 0.96475 |
| | 4. – | Sol | 1.75900 | 1.49600 | 0.37400 | 0.62850 |
| | | Sous-sol | 1.78075 | 1.27075 | 0.48450 | 0.59500 |
| *Pouvoir de nitrification* $HNO_3$ mmg. par litre (moyenne de 3 analyses) | 1. – | Sol | 0.017 | 0.006 | 0.020 | 0.007 |
| | | Sous-sol | 0.0075 | 0.007 | 0.042 | 0.006 |
| | 2. – | Sol | 0.033 | 0.007 | 0.025 | 0.006 |
| | | Sous-sol | 0.029 | 0.006 | 0.033 | 0.006 |
| | 3. – | Sol | 0.025 | 0.007 | 0.420 | 0.004 |
| | | Sous-sol | 0.010 | 0.015 | 0.660 | 0.008 |
| | 4. – | Sol | 0.050 | 0.015 | 0.150 | 0.003 |
| | | Sous-sol | 0.025 | 0.002 | 0.330 | 0.006 |
| *Pouvoir de nitrification* Heures nécessaires pour la complète disparition des nitrates du liquide de Giltay (moyenne de 3 déterminations) | 1. – | Sol | 164 | La dénitrification n'a pas eu lieu | 93 | 89 |
| | | Sous-sol | 130 | | 85 | 105 |
| | 2. – | Sol | 130 | | 168 | 135 |
| | | Sous-sol | 164 | | 73 | 65 |
| | 3. – | Sol | 108 | | 70 | 137 |
| | | Sous-sol | 164 | | 70 | 137 |
| | 4. – | Sol | 120 | | 70 | 135 |
| | | Sous-sol | 126 | | 121 | 105 |
| *Pouvoir d'azoto-fixation* N. mmg. par litre (valeurs obtenues en soustrayant du N. final, le N. contenues au début dans les bouillons de culture). | 1. – | Sol | 0.07896 | 0.02884 | 0.07098 | 0.06006 |
| | | Sous-sol | 0.08848 | 0.01776 | 0.06678 | 0.05208 |
| | 2. – | Sol | 0.07560 | 0.02306 | 0.06678 | 0.05208 |
| | | Sous-sol | 0.08876 | 0.01330 | 0.09492 | 0.03780 |
| | 3. – | Sol | 0.07658 | 0.01414 | 0.06398 | 0.04326 |
| | | Sous-sol | 0.06090 | 0.01316 | 0.06876 | 0.04004 |
| | 4. – | Sol | 0.05810 | 0.01400 | 0.02296 | 0.03318 |
| | | Sous-sol | 0.02506 | 0.01414 | 0.04802 | 0.04186 |

Les résultats analytiques, figurant sur le tableau, nous indiquent que les processus biochimiques se développent d'une manière que l'on peut considérer comme satisfaisante, bien que leur allure dépende des variations saisonnières, Et plus particulièrement il y a à noter à ce sujet que:

— le pouvoir d'ammonisation se développe au *maximum* en automne et en hiver; au *minimum* au printemps et en été;

— le pouvoir de nitrification est au *maximum* au printemps et en automne; au *minimum* dans les autres périodes;

— la bioréduction des nitrates n'a pas lieu en hiver, elle est lente en automne, tandis qu'elle devient plus rapide au printemps;

— la fixation de l'azote atmosphérique est *maxima* en automne et *minima* en hiver.

Cela s'entend, naturellement, dans les conditions actuelles des terrains examinés.

*Lab. de Bactériologie de l'Institut Royal Supérieur d'Agriculture de Pise.*

---

VERONA O. et LUCHETTI G. – **La dissolution du phosphore par l'effet de l'activité des microbes de la " ryzosphère ".**

On connaît les études de Perotti relatifs à la solubilisation micro-organique du phosphate tricalcique (1), comme l'interprétation que, relativement à cet ordre de faits, il a donnée aux circonstamces (climat-terrain de Delbrück) déterminant ou non la prépondérance de formes spéciales bactériques (2). Parmi ces circonstances on donne surtout de la valeur à l'influence qu'exercent sur les micro-organismes de l'humus les différentes plantes cultivées, de telle sorte qu'il s'ensuit une action sélective particulière capable de modifier — en les exaltant ou en les déprimant — les actions biochimiques du sol (3).

Parmi les autres résultats on a constaté la prépondérance numérique de formes déterminés, sous l'influence de plantes légumineuses, puis, graminées, enfin, cruicifères. Et en outre on a obtenu: pouvoir d'ammonisation, *maximum* dans les cultures de légumineuses, *minimum* dans celles de graminées; le contraire a été constaté pour le pouvoir nitrifiant; enfin, la fixation de l'azote fut *maxima* dans les cultures de graminées.

Ces faits, s'exerçant dans des régions déterminées du terrain, dites « édaphosphère » et « ryzosphère », ne représentent rien autre qu'une des formes de corrélation fonctionnelle entre micro-organismes d'humus et plante verte, à la connaissance de lequelle nous nous proposons d'apporter une modeste contribution avec la présente Note, dans laquelle, après avoir repris les études citées, en suivant la même directive, nous sommes à même d'esposer les résultats relatifs à la manière de se comporter des microbes de la édaphosphère en présence des phosphates de calcium insolubles.

Nous nous sommes servis, dans ce but, de terrains dans lesquels, pendant trois années successives, ont été cultivées des graminées (blè),

des légumineuses (fève) et des crucifères (Diplotaxis erucoides), en déterminant tout d'abord le nombre des microbes présents dans les trois différents terrains. Nous avons utilisé, pour cela, la méthode de nombrement des germes développés sur des cultures à plat préparées avec agar-haricots et cultivées à 24°C. pendant huit jours, en obtenant:

| | Nombre de germes par gr. de terre: |
|---|---|
| Terrain de légumineuses ................ | 1.350.000 |
| » » graminées .................. | 1.020.000 |
| » » crucifères ................... | 870.000 |

Il a été confirmé que le plus grand nombre de germes se rencontre dans les terrains cultivés de légumineuses, puis de graminées, enfin, de crucifères.

Quant à la solubilisation du phosphate tricalcique nous nous sommes servis de cultures brutes préparées par l'injection du milieu de culture suivant: eau 1,000; ammoniaque 2, saccharose 5, chlorure de sodium et sulfate de potasse (traces), phosphate tricalcique 2, avec gr. 1 de terre appartenant, respectivement, à des légumineuses, à des graminées et à des crucifères. Les déterminations ont été exécutées périodiquement sur des aliquotes de bouillons gardés, pendant 25 jours, à 24°C., en fournissant les résultats qui figurent dans le tableau suivant:

| Détermination | Volume du liquide analysé | $P_2O_5$ diluée gr.: | | |
|---|---|---|---|---|
| | | légumineuses | graminées | cruicifères |
| Initiale ......................... | 100 | traces | traces | traces |
| Après 5 jours de culture ........ | » | 0,041208 | 0,041208 | 0,035722 |
| » 10 » » » ........ | » | 0,107118 | 0,062897 | 0,074966 |
| » 15 » » » ........ | » | 0,038274 | 0,034639 | 0,034912 |
| » 20 » » » ........ | » | 0,028833 | 0,016840 | 0,039550 |
| » 25 » » » ........ | » | 0,012758 | 0,012758 | 0,022198 |

Ils nous indiquent que la solubilisation, dans les premiers dix jours, a été plus intense dans les cultures contenant de la terre provenant des légumineuses, ensuite, et presque égale, dans celles injectées avec de la terre des graminèes et des crucifères: cela paraît etre dû à un développement microbien plus intense, déterminé par le plus grand nombre de germes contenus dans les diverses terres.

Au 15$^{e}$ jour, le développement s'équivalant à peu près, la solubilisation a pris des valeurs correspondantes. Au 20$^{e}$ jour et au-delà la quantité d'anhydride phosphorique dissoute a été constamment supérieure dans les cultures de crucifères; et par suite, tandis que dans les graminées

elle allait se stabiliser, dans les légumineuses la courbe allait décroître jusqu'à passer au-dessous des autres.

Comme il ressort des résultats des recherches présentes, telle a été la manière de se comporter des microbes de la édapho-rizosfère de ces trois groupes de plantes, en ce qui concerne la dissolution de l'acide phosphorique dans le terrain: et c'est ce qu'avec raison on avait prévu, en connaissant depuis longtemps la plus grande aptitude que les crucifères possèdent, relativement aux graminées et aux légumineuses, à utiliser le phosphate tricalcique (4). En vertu, précisément, de cette aptitude elles sélectionnent dans le circuit de la rizosfère, les formes micro-organiques capables de les favoriser dans leur nutrition phosphatique.

---

(1) *R. Perotti,* « Sul ciclo biochimico dell'anidride fosforica nel terreno agrario ». Roma, 1909.

(2) *R. Perotti,* « Le condizioni del clima-terreno per l'induzione dell'azoto e la dissoluzione dell'acido fosforico nel suolo ». Rend. d. Soc. Chim. It., Roma, 1910.

(3) *R. Perotti,* « Per la conoscenza dei rapporti fra microrganismi e pianta verde ». R. Acc. dei Lincei, v. XXX, 1921.

(4) *C. Ravanna e M. Zamorani,* « Sulla utilizzazione del fosfato tricalcico per messo delle Crucifere ». Staz. Sp. Agr. It., v. XLII, 1909.

*Laboratoire de Bactériologie du R. Institut Sup. Agraire de Pise.*

---

## VERONA O. et PACI S. – **Quelques recherches sur la Bactériologie des terrains de la maremme de Talamone.**

Comme suite aux précédentes études sur la microbiologie des terrains littoraux de la Toscane (1) ont été entreprises les recherches dont à la présente note. Elles s'occupent des terrains de formation récente, pour la plupart, dus aux alluvions de la rivière d'Albegna et situés dans les environs de Talamone, dans la Province de Grosseto.

Suivant les règles techniques habituelles on a prélevés cinq échantillons de terre appartenant à différents types de terrains et à une profondeur de 20-25 cm. et de 40 cm. D'après des analyses sommaires physicochimiques ils résultèrent très dépourvus de squelette, en partie argileux, en partie sablonneux, non excessivement riches en calcium; dans certaines périodes de l'année, humides et frais, dans d'autres secs ou peu humides, contenant peu de substances organiques, enfin acides. ou tendant fortement à l'acidification.

La numération des germes a été exécutée au moyen du nombrement des colonies développées sur des plaques préparées avec agar-haricots et les résultats obtenus dans les quatre saisons furent les suivants:

| N° des échantillons | | Nombre des germes par 1 gr. de terre | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Eté | Automne | Hiver | Printemps |
| 1. Terrain bonifié depuis un an inculte; friable avec humus. | Sol | 2.865.000 | 2.265.000 | 80.000 | 450.000 |
| | Sous-sol | 7.750.000 | 2.000.000 | 110.000 | 470.000 |
| 2. Terrain friable à culture potagère. | Sol | 9.700.000 | 2.250.000 | 630.000 | 330.000 |
| | Sous-sol | 3.975.000 | 535.000 | 500.000 | 250.000 |
| 3. Terrain marécageux. | Sol | 8.035.000 | 1.750.000 | 450.000 | 180.000 |
| | Sous-sol | 9.425.000 | 1.450.000 | 550.000 | 180.000 |
| 4. Terrain friable, inculte | Sol | 3.220.000 | 835.000 | 830.000 | 150.000 |
| | Sous-sol | 3.600.000 | 1.100.000 | 980.000 | 350.000 |
| 5. Terrain sablonneux, inculte. | Sol | 6.400.000 | 675.000 | 450.000 | 250.000 |
| | Sous-sol | 4.270.000 | 1.400.00 | 300.000 | 600.000 |

À propos des résultats reportés, il y a peu de chose à dire quant aux différences numériques existant entre les divers types de terrain; et cela en tant que le contenu en microbes change avec le temps, d'une manière variables et inconstante, suivant les facteurs de milieu et de terrain avec différentes influences.

Il en est de même pour ce qui concerne les différences stratigraphiques.

Une analyse d'ensemble, pourrait plutôt, permettre une conclusion quant aux différences de saisons, lesquelles suivent une marche à peu près analogue à celle que Perotti et Verona, respectivement trouvèrent pour les plaines de Grosseto et de Pise. En été on a enregistré la plus grande augmentation numérique; par suite, il y a progressivement, moins de germes en automne, en hiver et au printemps. Le fait que, dans les terrains de Talamone aussi, le plus grand nombre de microbes se constate pendant la période d'été, — fait qui, en vérité, est singulier — étant donné que précisément dans cette période on n'a pas les conditions les plus favorables pour le développement des bactéries; cela pourrait nous permettre de généraliser le phénomène au moins pour nos terrains. Toutefois il y a lieu de considérer, qu'à ce sujet, d'autres études seraient nécessaires.

L'examen des diverses espèces a été exécuté au moyen des plaques d'agar-haricots qui avaient déjà servi pour la numération des germes.

En général on eut dans chaque période de l'année un développement considérable d'hyphomycètes; quelquefois on a trouvée des torules, des actynomycètes et, parmi les schizomycètes, de rares formes chromogènes.

Parmi les bactéries isolées on en a trouvée qui étaient dignes d'être notées et qui appartenaient toutes à des formes banales et communes. On peut rappeler: les souches de *Bact. fluorescens liquefaciens*, le Flügge qui, aussi dans ces terreins comme dans plusieurs autres, est très fréquent; le *Bact. discoformans* Zimm, *Bact. herbicola aureum* Burri et Süggeli, *Bact. violaceum* Scroeter, *Bact. pyocyaneum* (Flügge) L. et N.

La mesure de l'activité biochimique, exécutée suivant les règles habituelles de nos Laboratoires (2) fut effectuée sur la détermination des pouvoirs d'ammonisation, nitrification, dénitrification et fixation de l'azote,

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant:

| Détermination | Numéro des échantillons | | Eté | Automne | Hiver | Printemps |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Pouvoir d'ammonisation* $NH_3$ mmg. par litre (moyenne de quatre analyses) | 1. – | Sol | 1.01137 | 1.53000 | 0.61150 | 0.34850 |
| | | Sous-sol | 1.38125 | 0.85000 | 0.43122 | 0.38250 |
| | 2. – | Sol | 1.06250 | 1.53425 | 0.55325 | 0.21250 |
| | | Sous-sol | 0.76712 | 1.51725 | 0.42500 | 0.25500 |
| | 3. – | Sol | 0.90100 | 1.16875 | 0.37500 | 0.28050 |
| | | Sous-osl | 0.85000 | 1.38725 | 0.54400 | 0.40800 |
| | 4. – | Sol | 0.71750 | 1.33075 | 0.44200 | 0.41650 |
| | | Sous-sol | 0.90675 | 1.14750 | 0.34000 | 0.46750 |
| | 5. – | Sol | 0.74900 | 1.19750 | 0.39100 | 0.34000 |
| | | Sous-sol | 1.23250 | 1.10500 | 0.34000 | 0.44200 |
| *Pouvoir de nitrification* $HON_3$ mmg. par lire (moyenne de trois analyses) | 1. – | Sol | 0.0005 | 0.3000 | 0.0200 | 0.0050 |
| | | Sous-sol | 0.0005 | 0.2533 | 0.0337 | 0.0030 |
| | 2. – | Sol | 0.0005 | 0.5966 | 0.2550 | 0.1930 |
| | | Sous-sol | 0.0005 | 0.5000 | 0.0442 | 0.2083 |
| | 3. – | Sol | 0.0005 | 0.0843 | 0.2667 | 0.0167 |
| | | Sous-sol | 0.0005 | 0.0160 | 0.0175 | 0.0367 |
| | 4. – | Sol | 0.0005 | 0.2500 | 0.0700 | 0.1033 |
| | | Sous-sol | 0.0005 | 0.0250 | 0.0250 | 0.0367 |
| | 5. – | Sol | 0.0005 | 0.0750 | 0.0950 | 0.0200 |
| | | Sous-sol | 0.0005 | 0.0250 | 0.0250 | 0.0150 |
| *Pouvoir de dénitrification* Heures nécessaires pour la complète disparition des nitrates du liquide de Giltay. (moyenne de trois détermin.) | 1. – | Sol | La dénitrification n'eut pas lieu après un mois | 114 | 55 | 82 |
| | | Sous-sol | | 146 | 72 | 82 |
| | 2. – | Sol | | 90 | 72 | 98 |
| | | Sous-sol | | 201 | 72 | 98 |
| | 3. – | Sol | | 96 | 55 | 98 |
| | | Sous-sol | | 90 | 48 | 98 |
| | 4. – | Sol | | 122 | 114 | 98 |
| | | Sous-sol | | 148 | 86 | 98 |
| | 5. – | Sol | | 162 | 72 | 63 |
| | | Sous-sol | | 172 | 100 | 82 |
| *Pouvoir d'azoto-fixation* N. mmg. par litre (Valeurs obtenues en soustrayant du N. final, le N. initialement contenu dans les bouillons de culture). | 1. – | Sol | 0.04424 | 0.04592 | 0.05600 | 0.06384 |
| | | Sous-sol | 0.06944 | 0.05056 | 0.06608 | 0.04200 |
| | 2. – | Sol | 0.05200 | 0.04200 | 0–07840 | 0.03920 |
| | | Sous-sol | 0.02128 | 0.04480 | 0.08456 | 0.04536 |
| | 3. – | Sol | 0.04608 | 0.04648 | 0.06832 | 0.03696 |
| | | Sous-sol | 0.04936 | 0.02464 | 0.07000 | 0.04928 |
| | 4. – | Sol | 0.03192 | 0.00896 | 0.07392 | 0.04704 |
| | | Sous-sol | 0.01904 | 0.05096 | 0.09184 | 0.04760 |
| | 5. – | Sol | 0.04800 | 0.04552 | 0.02576 | 0.05600 |
| | | Sous-sol | 0.05400 | 0.04480 | 0.04032 | 0.04480 |

Ces résultats mettent en évidence que:

1) Le processus d'ammonisation peut être considéré comme suffisant aux besoins de la végétation. On ne peut déterminer pour lui des différences probatives entre terrain et terrain, tandis qu'il varie beaucoup par suite de la succession des saisons: *maximun* en automne, il résulte moins intense en été et notablement inférieur au printemps et en hiver.

2) Le processus de nitrification est à peu près égal dans tous les terrains pendant l'été, période pendant laquelle on a une forte diminution de l'abaissement de l'activité nitrifiante; pendant les autres saisons les différences entre terrain et terrain ne se correspondent pas toujours. Le processus acquiert une plus grande intensité pendant l'automne, moindre pendant l'été.

3) L'activité dénitrifiante se maintient à peu près égale dans tous les types de terrains considérés. Elle ne se manifesta pas en été; a été plus rapide en hiver.

4) La fixation de l'azote s'est produite à peu près avec la même intensité dans chaque type de terrain. Elle a été *maxima* en automne et d'égale valeur dans les autres périodes de l'année.

---

(1) Etudes faites dans ce Laboratoire sur la microbiologie des terrains de la Toscane. (Bullett. del R. Istututo Superiore Agrario di Pisa).

1926 – *Perotti R. e Verona O.*, « Prime note batteriologiche sui terreni di Maremma ».

1927 – *Perotti R .e Mostalli F.*, « Studi microbiologici sui terreni della Bassa Maremma di Val di Cecina ».

1927 – *Verona O. e Matteoni P.*, « Alcune variazioni della microflora del terreno in conseguenza di opere di bonifica ».

1927 – *Perotti R. e Verona O.*, « Seconda nota sulla batteriologia dei terreni della Maremma Grossetana ».

1927 – *Verona O.*, « Studi microbiologici sui terreni della campagna pisana ».

1928 – *Verona O.*, « Sopra la microflora e le attività microbiochimiche dei terreni della campagna Pisana ».

1929 – *Verona O.*, « Secondo contributo di ricerche sulla microbiologia dei terreni della Campagna Pisana ».

1929 – *Verona O.*, « Terza nota sulla batteriologia dei terreni della Maremma Grossetana ».

1929 – *Verona O. e Del Tredici A.*, « Ulteriori contribuzioni alla conoscenza della batteriologia dei terreni della Bassa Val di Cecina ».

1930 – *Verona O. e Paci S.*, « Contributo alla batteriologia dei terreni della Maremma di Talamone ».

1930 – *Verona O. e Baj E.*, « Batteriologia di alcuni terreni del Massetano.

(2) *Perotti R.*, « Tecnica di Biologia Vegetale applicata all'Agricoltura ». Roma, 1928.

*Laboratoire de Bactériologie du R. Institut Sup. d'Agraire, de Pise.*

MORI N. – **A' propos d'une expérience d'isopatinothérapie de la pyroplasmose équine.**

Une forme de pyroplasmose par *Nuttalia equi* se manifesta pendant l'été de 1929, chez les chevaux du 25ème Régiment d'Artillerie qui avait son quartier à Nola; elle frappa presque la moitié de l'effectif et fut suivie par plusieurs cas de mort.

Il y avait encore, au mois d'octobre de la même année, sept chevaux avec une forme chronique, qu'aucun traitement thérapeutique ou hygiéno-diététique, jusqu'alors éprouvé, n'avait réussi à vaincre. Ces sujets étaient réduits en des conditions lamentables, et même on attendait à tout moment la mort de quelques uns d'entre eux, qui ne parvenaient plus à se tenir debout et qui avaient des plaies de décubitus très étendues et dégoûtantes.

Je permis que, comme *ultima ratio*, l'on expérimentât sur ces sujets l'*Isopatine antipyroplasmique*, produit immunitaire spécifique-aspécifique, que moi même j'ai préparé — suivant le principe et par la technique que j'ai décrit dans un mémoire particulier — (1), en employant la rate de chevaux morts par suite de la forme typique de la maladie et qui appartenaient au même foyer.

L'expérience d'isopatinothérapie fut étendue à quatre autres chevaux atteints de la forme aigüe de la maladie.

On injecta les sept sujets atteints de la forme chronique, moyennant l'Isopatine, par voie sous-cutanée, à la dose de 0.001 cmc,; les autres équins, à forme aigüe, reçurent l'Isopatine, toujours par voie sous-cutanée, à la dose de 0.0005 cmc.

Excepté un cheval qui n'eut que huit injections, on pratiqua à tous les autres, onze injections d'Isopatine à deux, quatre jours d'intervalle.

Pendant le traitement on n'eut à noter aucune réaction ni générale, ni sur le point d'inoculation.

Après quatre ou cinq injections on put remarquer les premiers résultats thérapeutiques, en faveur des conditions générales et des fonctions digestives. Les chevaux continuèrent à améliorer graduellement, jusqu'à leur guérison complète. Ils purent, ainsi, rentrer tous chez leurs Batteries, en de bonnes conditions trophiques et ensuite ils ont pu être assujétis au travail habituel du régiment.

Pendant l'été 1930 il y eut quatorze rechutes parmi les chevaux du régiment, lesquels, l'année avant, avaient souffert la « Nuttalliose ». Aucun des animaux atteints par cette rechute n'appartenait au groupe des onze sujets traité avec l'Isopatine.

---

(1) *Mori N.*, « Le isopatine ». Annali Italiani di Chirurgia, vol. VIII, fasc. IX, 1929.

Doint-on attribuer ce fait à un hasard? Ou bien l'Isopatine réussit-elle à guérir définitivement la « Nuttalliose »? Ceci paraît probable, si l'on considère les résultats obténus en d'autres maladies infectieuses et dans les tumeurs malignes de l'homme par l'emploi des isopatines correspondantes.

La question est assez intéressante et elle doit être prise en considération. Si nous arrivions à démontrer, par des expériences nombreuses, que l'Isopatine antipyroplasmique peut vraiment amener l'organisme atteint de Nuttalliose, à se débarasser de tous les éléments parasitaires spécifiques, nous aurions, dans cette préparation, une force pour combattre, d'une manière efficace, cette maladie, au point de vue prophylactique aussi. En effet, les animaux guéris à l'aide de l'Isopatine, ne seraient plus, ainsi qu'ils le sont maintenant, les dépositaires du virus pyroplasmique à l'état de virulence latente, apte non seulement à donner des rechutes, mais à infecter des sujets nouveaux, au moyen des tiques qui transmettent l'infection, et à provoquer ainsi de nouvelle sources de la maladie en question.

Après cette démonstration, l'on pourrait compléter la prophylaxie de cette infection si importante, par un traitement isopatinique approprié des chevaux des régions où la maladie domine, car, même en étant en bonne santé, ils hébergent très souvent, les hémoprotozoaires spécifiques à l'état latent: l'on pourrait ainsi stériliser, en tant que possible, cette autre source d'infection et l'on éviterait de même l'apparition éventuelle de la maladie chez ces chevaux par suite de l'action d'agents différents, qui affaiblissent leur organisme.

Pour compléter la lutte contre la « Nuttalliose » on pourrait enfin traiter préalablement, avec l'Isopatine antipyroplasmique, les chevaux des régions indemnes, au moment de les importer dans des régions où la maladie est très répandue; ces importations sont, en général, suivies de pertes assez graves et parfois d'une véritable hécatombe, étant donné la réceptivité remarquable des sujets nouveaux vis-à-vis de l'infection.

Je suis d'avis que tout ce dont je viens de parler ici doive être considéré comme quelque chose de très important, non seulement par rapport à une lutte profitable contre la « Nuttalliose », mais aussi parce que les acquisitions que nous avons atteintes au sujet de cette maladie, pourraient avoir un pendant parfait en d'autres pyroplasmoses, ainsi p. ex, la pyroplasmose bovine, et en d'autres infections protozoaires qui présentent des caractéristiques épidémiologiques analogues, comme, par ex, les trypanosomiases et le paludisme de l'homme.

Resumè. – L'A. a obtenu des résultats tout à fait satisfaisants, dans le traitement de la pyroplasmose équine par *Nuttalia equi*, à l'aide de l'*Isopatine antipyroplasmique*, produit immunitaire spécifique-aspéci-

fique, qu'il a obtenu moyennant la disgrégation du matériel pathologique (rate) de cette infection. Il est d'avis que l'*Isopatine* guérit d'une manière définitive cette infection, ce qui serait très important, au point de vue prophylactique aussi.

---

PEROTTI R. – **Les myco-bactérioses.**

On sait combien d'incertitude il y a dans la connaissance des bactérioses qui frappent les végétaux, surtout pour ce qui se rapporte à leur déterminisme extrinsèque et intrinsèque; on sait aussi très bien que, depuis l'ancienne hypothèse négative de De Bary, jusqu'aux plus récentes études en propos, on n'a jamais pu faire que des inductions plus ou moins arbitraires et, en tout cas, point satisfaisantes du tout, à l'égard de l'éthiologie des nombreux cas que l'on a constatés.

On a vu qu'une forme bactérienne parfois frappe et parfois ne frappe pas une espèce végétale supérieure déterminé; en certains cas on a constaté qu'elle atteignait des espèces différentes de plantes, même non systhématiquement analogues; en d'autre cas enfin on a cru remarquer qu'elle avait une évidente spécificité infectieuse.

Le jeu compliqué de l'état de virulentation du parasite, vis-à-vis de celui de réceptivité des hôtes; la variabilité de nombreuses influences de l'ambiant par rapport à l'activité de l'un aussi bien qu'à celle des autres; tout cela a été invoqué pour expliquer comment l'infection a lieu parfois, et parfois non, et, dans le premier de ces deux cas, même accompagnée par des manifestations plus ou moins différentes et sérieuses; on trouve à cela un appui remarquable dans la théorie actuelle qui nie, en général, la fixité du parasitisme des formes, dont on soutient même la contingence.

Nous n'allons pas discuter pour le moment, cette théorie qui peut, au contraire, être plus ou moins raisonnablement admise; mais, à la suite de quelques observations et de quelques résultats expérimentaux, dont on donne un aperçu dans ce mémoire, il faut reconnaître que, jusqu'à présent, une circonstance a échappé à l'examen éthiologique de quelques cas de bactériose, circonstance qui permet d'affirmer que la cause principale et non douteuse de la pathogénité réside en elle même.

J'ai constaté, pendant ces dernières années, l'existence d'une maladie très répandue de *Nerium Oleander* L. dans toutes ses variétés cultivées dans la région de Pise, qui se manifeste avec des déformations caractéristiques et des hypertrophies des fleurs et des fruits (1); dans cette ma-

(1) *Perotti R.* et *Bonaventura G.*, « Mico-batteriosi dei frutti di *Nerium Oleander* L. ». Boll. R. Istituto Superiore Argario di Pisa, vol. IV, 1928.

ladie l'examen microscopique a permis de constater, dans les tissus altérés, la présence constante de *Alternaria tenuis* Nees et d'un *Bacterium* sp., entre lesquels on a pu certifier l'existence de mutuels rapports fonctionnels.

On cultiva ces deux microrganismes en culture pure sur plaques d'agar-haricots neutre, colorées avec du bleu bromo-thymol au 0,04% de manière que des loupes distinctes du matériel étaient disposées à une distance différente entre elles, sur la même plaque, on observa que le champignon acquiérait un développement plus grand là où il se trouvait rapproché de la bactérie qui, à cause de sa production d'acides, jaunissait le substratum, tandis que celui-ci demeurait inaltéré en correspondance des colonies de champignons.

Il fallait donc admettre que le développement des deux microrganismes se trouvait en correlation, par le fait de l'émission, de la part de la bactérie, de substances d'une telle nature — acides surtout — qu'elles contribuaient au développement du parasite champignon.

En d'autres cas de semblables manifestations pathologiques du laurier-rose, on a constaté que la symbiose parasitaire était constituée non pas par l'*Alternaria tenuis*, mais par le *Fusarium Martii* App, e Wr, et par deux formes ressemblantes de *Bacterium* sp. qui rendaient très acide le substratum neutre d'agar-haricots, tandis que le *Fusarium*, aussi bien que l'*Alternaria* ne le rendaient point acide (1).

Le fait fondamental est pourtant le même, avec des conséquences plus graves et profondes, peut-être, pour le *Fusarium* que pour l'autre mycète (2).

Mais ce n'est pas ici que se bornent les recherches que j'ai faites sur l'attaque simultanée, corrélationnée, synergétique, des deux parasites, l'un qui dérive des bactéries, l'autre des champignons.

Déjà depuis 1926, on avait constaté la synergèse parasitaire de *Tubercularia vulgaris*, Tode, et d'un *Bacterium* sp, sur les branches d'un tilleul.

Le *bacterium* fournit assez abondamment au champignon l'acidité dont le développement de celui-ci a besoin dans une quantité remarquable, et qui, au contraire, est très faible chez le tilleul; en même temps, quelques phénomènes chémiotactiques avérés, font supposer que la bactérie élimine des substances appropriées à la nourriture du champignon (3).

Des faits semblables ont été remarqués en quelques càs, où les feuilles du pêcher et du prunier ont été atteintes d'*Exoascus*.

---

(1) *R. Perotti* et *G. Pontecorvo*, « Ulteriori ricerche sulla micobatteriosi fiorale e dei frutti dell'Oleandro ». Boll. R. Istit. Sup. Agrario di Pisa, vol. V, 1929.

(2) *Verona O.* et *Franchini R.*, « Il *Fusarium Martii* App. e Wr. nella mico-batteriosi dell'Oleandro ». Boll. R. Istit. Sup. Agrario di Pisa, vol. VI, 1930.

(3) *Perotti R.* et *Bonaventura G.*, « Ricerche ed osservazioni sulla biologia ed in ispecie sul parassitismo della *Tubercularia vulgaris* Tode ». Boll. R. Istit. Sup. Agrario di Pisa, vol. II, 1926.

M. Jamieson C. O. (1), dans la « carie » des fruits de tomates par *Phoma destructiva*, Plowright, constatait la présence de nombreuses espèces bactériennes, parmi lesquelles M. Ciferri (2) assura que le *Bac. mesenthericus vulgatus* était le plus répandu.

M. Sansone (3) décrivait une « gangrène humide » des tubercules de pomme de terre, bien définie et produite par *Fusarium Solani* (Mont.) Sacc., en même temps que par des organismes schizomycétiques, qui vivent dans l'intérieur des conidies, et dans les hyphes du champignon et qui donnent lieu aussi à une formation particulière de scléroses bactérifères.

***

La casuistique commence donc a être assez nombreuse pour que l'on puisse exclure que la présence de bactéries dans les attaques dus aux champignons des plantes supérieures — présence qui a été, peut-être, négligée jusqu'ici — soit simplement un épiphénomène ainsi qu'on l'avait cru jusqu'à présent. L'on peut affirmer, au contraire, qu'elle représente une synergèse singulière et plus ou moins définie, entre des formes de mycètes et de schizomycètes.

Il faudra encore déterminer si cette présence est nécessaire ou simplement contingente. Ce qui, toutefois, semble assuré, c'est le fait synergétique, démontré par les expériences, et qui pourra influer sur la pathogénicité en toute forme saprophytaire, de même qu'il pourra empirer et modifier le tableau morbide, déterminé par d'autres formes en soi-mêmes parasitaires.

L'entité pathologique des mycobactérioses devrait, pourtant, à mon avis, s'ajouter à celle des « bactérioses », aussi bien qu'à celle des « mycoses ».

*Laboratoire de Pathologie végétale du R. Institut Supérieur Agraire de Pise.*

---

(1) *Jamieson Clara O.*, « *Phoma destructiva* the cause of a fruit ror of the Thomato ». Journ. of Agric. Res. IV, p. 1, 20, 9115.

(2) *Ciferri R.*, « Ulteriori note sulla *carie* del Pomodoro ». Riv. di Patologia Vegetale, XIII, N. 3-4, 1923.

(3) *Sansone F.*, « Il *Fusarium solani* (Mont.) Sacc. in simbiosi mutualistica con batteri nella determinazione di cancrena umida dei tuberi di patata ». Boll. R. Stazione di Pat. Veget., Roma IX, N. 2, 1929.

VERONA O. – **A' propos des ferments des fruits de " Diospirus kaki ".**

En étudiant la fermentation des fruits de « *Diospirus kaki* », que jusqu'ici l'on n'a étudiée que peu ou à peine superficiellement (1), par rapport à son éventuelle utilisation pour la fabrication des cidres, on a eu l occasion d'isoler du moût en fermentation naturelle, une espèce de saccharomycète, pour lequel on propose le nom de *Saccaromices Diospirii* n. sp.

Nous en rapportons ici les caractères principaux:

Dans les moûts d'où il fut isolé, ce saccharomycète se développe aisément et surtout en amenant la transformation complète à 22°-24° C. des sucres réducteurs présents, au bout de sept ou huit jours.

S'il est obtenu en culture pure au moyen de l'isolement monocytogénétique, il se présente constitué par des cellules rondes ou presque rondes, à gros noyau et qui, provenant des substratums de moût ou de gélatine-kaki mesurent 6,2 $\mu$ — 6,4 $\mu$ de diamètre. Les colonies naines cultivées en agar-kaki sont superficielles, petites, isolées, opaques, blanches, molles, circulaires ou presque rondes, un peu relevées, à contour continu, à structure granulaire très fine: cultivées en agar-haricots, elles sont un petit peu plus grandes, mais pareilles quant aux autres caractères; en gélatine-kaki elles sont beaucoup plus petites qu'en agar; en gélatine de viande elles ont un aspect de petits points et un développement très lent.

Les colonies géantes en gélatine de viande, s'étendent d'une manière limitées, elles demeurent plates et leur contour n'acquiert point de découpures particulières; en agar, au contraire, elles se présentent larges, un peu relevées mais non pas façonnées en cratère et avec un contour dentelé.

Sur les frottis l'on voit se développer un enduit continu, étendu, opaque, blanc, mou, lisse, découlant dans l'eau de condensation où il se forme un dépôt.

Dans les infixions, le développement des colonies est borné à la surface, et l'on n'a pas de trace de fluidification.

Ayant pratiqué des épreuves de nutrition moyennant des solutions renfermant une source hydrocarbonée ou azotée différente par rapport au moût de kaki, on remarqua que ce dernier, mieux que toute autre substratum, répond aux conditions de développement les plus favorables. Le développement fut plus ou moins borné et les dimensions des cellules végétatives furent parfois réduites même à 3,2 $\mu$, dans les autres substra-

---

(1) Staz. Sup. Agraria, vol. LIV, 1921.

tums qui contenaient de l'azote, soit protéique soit amidique, ou ammonique ou bien nitrique et, en tant que source hydrocarbonée, du glucose ou du saccharose.

Le moût, où l'on a cultivé, même ultérieurement, ce ferment, a été préparé en coupant à petits morceaux les fruits et en ajoutant de l'eau, dans le rapport 1 : 2; ensuite, après défécation, le tout a été filtré sur toile. Il acquit une coloration jaune-or très foncée et, d'après une analyse superficielle, il montra de contenir le 10,1% d'extrait sec, le 0,314% de cendre, le 8,41% de sucres réducteurs, le 8,78% de sucres invertis. Il résulta que sa densité était de 1,040. On doit exclure — d'après les expériences récentes de quelques savants — (1) que les sucres non réducteurs soient représentés par du saccharose ou, en tout cas, par un dysaccharide ou polysaccharyde saccharoïde: il paraît plutôt qu'il s'agit d'une substance que l'on peut rapporter au groupe des mannanes.

Naturellement, pour ce qui en est aux buts de l'utilisation pratique des fruits, par rapport à ce qu'ils contiennent de sucres, il faut faire ressortir que ces derniers varient d'une manière remarquable, non seulement suivant le degré de maturation, mais aussi selon l'allure de la saison.

Le moût, préparé et inoculé avec culture pure de *Sacc. Diospirii*, fermenta rapidement et l'on obtint une transformation complète en alcool des sucres présents. Le liquide qui en résulta, étant donné qu'il contenait très peu de matières sucrées et qu'on fut obligé de le délayer beaucoup, ne résulta point doué de caractéres organoleptiques très agréables; il pourrait être comparé, pour la couleur et la saveur, à un vin blanc très léger, sans aucun arome, et ayant seulement le 4% d'alcool.

Des additions de tartrate ammonique, se montrèrent favorables au procédé de fermentation, car on produisit davantage de l'alcool, à la dose de l'1%; il résulta, au contraire, que des additions de phosphate bypotassique entravaient, en tous cas, toute concentration; dans les deux cas et même là où les sels ont été administrés en même temps, les caractères organoleptiques n'ont ressenti aucun avantage: même les liquides résultèrent plus ou moins acides.

*Laboratoire de Bactériologie Agraire du R. Institut Supérieur Agraire de Pise.*

(1) Boll. Ist. Sup. Agrario di Pisa, 1930.

## AGOSTINI A. – **Coniosporium isolé d'un cas d'onychomycose.**

M. le Dr. E. Tarantelli, Aide chez la Clinique de Dermatologie et de Syphiligraphie de Rome, vient d'avoir envoyé au Laboratoire Cryptogamique de Pavie, dès le mois de décembre de l'année passée, une culture d'un mycète.

Il l'avait isolé d'un paysan de la Province de Rieti, âgé de 27 ans, qui présentait depuis le mois d'août, une maladie des ongles de quelques doigts des mains et des pieds.

Or, M. le Prof. Gino Pollacci, Directeur de notre Laboratoire, m'a confié ce mycète àfin que je l'étudie.

Après ses divers passages dans les milieux de Laboratoire (Pollacci, Sabouraud, pomme de terre, carotte, Raulin, agar-glucosé, glucose, malthose) le mycète en question a gardé des caractères constants qui permettent de le classer dans le genre *Coniosporium*. Les espèces appartenant à ce genre sont nombreuses, mais certaines d'entre elles n'auraient pas une raison d'éxister, car elles ont été citées avec des diagnostics incomplets et insuffisants, tandis que plusieurs de ces espèces se différencient des autres seulement parce qu'elles ont été isolées de matrices différentes.

Etant donné que toutes les espèces de ce genre que l'on a décrit jusqu'ici, ont été constatées comme étant parasites et saprophytes des plantes seulement, et en vue aussi de la description un peu obscure qu'on en a fait, j'ai distingué cette espèce par le nom de *Coniosporium onichophylum*. Il est a espérer qu'une étude sérieuse et systhématique puisse mettre un peu d'ordre dans ce groupe de champignons, dont la plupart des espèces ont été rapportées par des diagnostics insuffisants.

Les conidies des espèces que j'ai étudiées poussent dans les 24 heures et produisent un mycélium qui se développe rapidement lorsqu'elles sont portées dans un milieu de laboratoire, à la température ambiante. Leur mycélium est floconneux, tout d'abord hyalin et, ensuite, dans la masse aérienne, il est rose tandis que dans le substratum sa couleur est noisette. Il est constitué par des hyphes hyalines et par des hyphes qui renferment du pigment jaune-brun; son épaisseur est de 2-6 $\mu$; il est irrégulièrement septé avec des gouttes huileuses abondantes et des granulations tout à fait menues, réfringentes. En général, les conidies sont lenticulaires; lorsqu'elles sont vues d'en face, elles sont rondes et mesurent de 8 à 12 $\mu$ de diamètre, tandis que de profil leur diamètre est de 4 à 5 $\mu$. En plus des conidies lenticulaires, on observe des conidies ellipsoïdales ayant de 10 à 12 $\mu$ et de 5 à 7 $\mu$, et encore un petit pourcentage de conidies très irrégulières qui peuvent mesurer jusqu'à 17 $\mu$ de longueur et qui sont ovales, ou recourbées, réniformes ou bien en massue. Ces conidies ont un épis-

porium olivâtre ou brun-livâtre avec un contenu granuleux, huileux, hyalin; elles apparaissent comme étant circonscrites d'un halo plus clair. Elles sont très résistantes vis-à-vis des agents externes et c'est seulement après un traitement à l'aide d'acides — par ex, acide sulfurique concentré — qu'elles se décolorent légèrement et s'ouvrent comme les valves d'une coquille. Le mycète pousse bien à la température de 10-25 degrés; lorsque les 35 degrés sont dépassés il se développe avec difficulté, et à 40° il est complètement desséché. Il croît soit dans l'obscurité, soit à la lumière du soleil. Il a des propriétés zimogènes. Il alcalinise faiblement les milieux acides. Il produit une substance huileuse très abondante, et du glycogène.

Les radiations ultraviolettes, moyennant la lampe de quartz à vapeur de Hg (5 K 125 V), n'empèchent pas le développement du mycète; elles n'ont pas une influence particulière sur les caractères morphologiques et, lorsqu'il s'agit de radiations qui varient de 20 à 60 secondes, on n'observe pas de différences sur le développement macroscopique du mycète en question.

Des épreuves sont en cours, qui ont pour but d'en établir la pathogénicité envers les animaux de laboratoire.

## RESUMÉ

D'une lésion clinique d'onychomycose chez un jeune paysan de Rieti, on a isolé un mycète qui a été classé comme une nouvelle espèce de *Coniosporium*. En se rapportant au cas clinique, l'A. a dénommé ce mycète: *Coniosporium onicophylum* Agostini; il en a étudié les caractères morphologiques et physiologiques, il a fait des épreuves de radiations ultra-violettes et maintenant il est en train de faire des expériences dans le but d'établir la pathogénité du mycète en question, par rapport aux animaux de laboratoire.

*R. Institut Botanique et Laboratoire Cryptogamique de la R. Université de Pavie.*

---

DAVANZO I. – **L'influence de l'ablation totale de l'utérus sur le cycle oestral des femelles des rats.**

On est encore bien loin d'avoir résolu l'ancienne controverse à propos de l'opportunité de laisser ou non l'ovaire *in situ* lorsqu'on est forcé, pour une raison quelconque, d'extirper l'utérus. Cependant, cet argument a été examiné et discuté plusieurs fois et il le fut encore récemment, à l'occasion du « Referendum Gaifami » en 1927.

Or, tandis que, d'un côté, les gynécologistes et les chirurgiens, guidés par une conception théorique, se préoccupent de conserver à la femme,

surtout quand elle est jeune, sa fonction ovarienne complexe, de l'autre côté la pratique nous enseigne qu'en laissant *in situ* uniquement l'ovaire sans l'utérus, la première va souvent dégénérer, de sorte qu'une ovulation régulière et rythmique vient à manquer et des troubles sérieux peuvent apparaître qui parfois exigent, à leur tour, une deuxième intervention. Tout chirurgien et tout gynécologiste a eu l'occasion d'observer un certain nombre de femmes hystérectomisées par suite de fibromyomes utérins ou de métro-annexites, chez lesquelles, après un délai plus ou moins long, l'ovaire laissée en place avait subit des modifications pathologiques de nature inflammatoire, accompagnées d'un grossissement remarquable de l'organe et associées à des troubles douloureux tellement intenses à exiger une deuxième intervention.

On a tâché d'éclaircir le mieux ce problème si complexe, à l'aide de recherches expérimentales, mais les résultats que l'on a obtenus ne sont point nombreux et ils ne s'accordent pas trop; dans quelques cas ils sont même contradictoires.

D'après Glaeveke et Grammaticati la fonction ovarienne persisterait jusqu'à l'époque de la ménopause physiologique, mais cette fonction persistante entraînerait malheureusement des «*molimina menstrualia*» accompagnés de douleurs locales telles à nécessiter dans quelques cas, l'intervention chirurgicale (Glaeveke). Suivant Mandl, Burger et Keitler, l'on aurait, malgré l'hystérectomie, la continuation de l'ovulation, mais l'ovaire subirait bientôt un processus d'atrophie. D'après Lindig et Loeb, au contraire, le volume de l'ovaire des animaux hystérectomisés augmenterait énormément, à cause de la dégénération kystique des follicules, phénomène qui, suivant Loeb, est dû à la persistance du corps jaune lequel empêcherait la maturation complète des follicules. D'ailleurs, ce contraste d'opinions est, plusieurs fois, plutôt apparent que réel, car l'évolution de l'ovarite sclérocystique se réalise à travers trois périodes: la première est caractérisée par la présence d'un nombre anomal de follicules en train de croître; dans la deuxième, l'on constate la présence de kystes folliculaires nombreuses et de nombreux corps jaunes; dans la troisième enfin on voit prédominer la sclérose et l'atrophie des tissus ovariens. Quoi qu'il en soit, la plupart des AA. admettent concordement que la fonction ovarienne va devenir irrégulière lorsque — pour une raison quelconque — on est forcé d'extirper l'utérus. Et, en vue de cela, il y a donc certains AA. qui attribuent à l'utérus une particulière action régulatrice de la fonction ovarienne. MM. Bouin et Ancel et Fränkel parlent sans autre d'une action endocrinienne qui serait développée par la glande dite miométrale de l'utérus de la lapine, que M. Fornero aurait démontré aussi dans l'utérus de la femme enceinte, sous la forme de cellules interstitielles lypoïdifères, lesquelles seraient identiques aux cellules interstitielles de l'ovaire.

***

Dans le but d'apporter une contribution à cet argument si complexe qui, non seulement offre un intérêt biologique, mais encore un intérêt éminemment pratique, j'ai extirpé à des rats adultes et à cycle oestral régulier, l'utérus *in toto* et j'ai contrôlé, ensuite, le comportement de leur fonction ovarienne.

On contrôle la fonction ovarienne, moyennant le frottis vaginal qui, chez les femelle des rats est assujetis à des modifications cycliques synchrones, suivant les différentes phases fonctionnelles de l'ovaire.

## Expériences.

Ier animal: *Cycle oestral régulier de* 5 *jours.* — 6-III: On pratique l'intervention. À partir de ce jour la période de l'oestrus apparaît une seule fois, c'est-à-dire le 12-III. Pour le restant, le frottis se présente toujours riche en cellules cornifiées, épithéliales et en léucocytes. L'animal succombe le 20-IV. L'autopsie met en évidence les ovaires grossies, avec de petites kystes, macroscopiquement appréciables.

IIème animal: *Cycle oestral régulier de* 5-6 *jours.* — On pratique l'intervention le 6 de mars. Le 12-III il y a quelques indices oestraux, car la sécrétion est composée, en grande partie, de cellules cornifiées, mais il y a aussi une quantité assez modique de cellules épithéliales nucléaires. À partir de cette époque le frottis vaginal est toujours et uniformement constitué par des cellule cornifiées, et épithéliales et par des leucocytes.

IIIème animal: *Cycle oestral régulier de* 6 *jours.* — Le 6 de mars on pratique l'intervention. Même après celle-ci, le cycle oestral persiste, avec la régularité d'auparavant.

IVème animal: *Cycle oestral régulier de* 5-7 *jours.* — Il est opéré le 4 d'avril. Après l'intervention, la période de l'oestrus ne se présente plus; le 10 d'avril le frottis vaginal montre les caractères du « pre-oestrus » (épithéliums nucléaires), mais pendant les jours successifs le frottis est encore composé par des cellules cornifiées, par des cellules épithéliales et par des leucocytes.

Vème animal: *Cycle oestral régulier de* 6 *jours.* — On pratique l'intervention le 4 avril. Le 8 le frottis vaginal est caractérisé par nombreuses cellules cornifiées, accompagnées de quelques rares cellules épithéliales nucléaires (indice oestral). Ensuite, le frottis présente toujours des cellules cornifiées, des cellules épithéliales et des leucocytes abondants.

VIème animal: *Cycle oestral régulier de* 6 *jours.* — On pratique l'intervention le 4 avril, après quoi l'on ne voit plus apparaitre la période de l'oestrus; le frottis montre toujours des cellules cornifiées, épithéliales et des leucocytes abondants.

VIIème animal: *Cycle oestral de* 5-7 *jours*. — On pratique l'intervention le 4 avril, après quoi la période d'oestrus n'apparait plus; le frottis vaginal présente toujours des cellules cornifiées, des cellules épithéliales et des leucocytes abondants.

***

Des recherches pratiquées on peut donc conclure que l'ablation totale de l'utérus provoque souvent chez les femelles adultes des rats, une perturbation grave de la fonction ovarienne, qui consiste dans la cessation d'une ovulation cyclique et régulière. Dans ces cas là, la sécrétion est uniformement composée par des cellules épithéliales, des cellules cornifiées et des leucocytes, tandis qu'elle ne présente jamais ou bien rarement le tableau oestral caractérisé par la présence des seules cellules cornifiées. Pour le moment il n'est pas possible d'établir quelles sont les véritables causes de cette perturbation fonctionnelle de l'ovaire; avant tout nous n'avons pas à notre disposition les résultats histologiques des ovaires, car les animaux se trouvent encore en observation. En outre il n'est pas possible de préciser l'entité de l'influence due à l'intervention chirurgicale, soit comme traumatisme — en s'agissant d'animaux tout à fait petits — soit parce qu'elle a entraîné l'interruption du pédoncule vasculaire utéro-annexial et, par conséquent, elle a réduit considérablement l'irroration de l'ovaire. Dans ces circonstances, il serait toujours audacieux que d'attribuer uniquement à l'absence de l'utérus la cause de ces altérations des fonction ovariennes, que l'on a observées consécutivement à l'hystérectomie totale des femelles des rats.

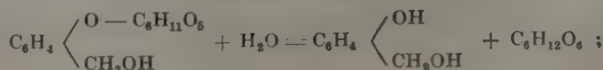
*Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin. Section Gynécologique de l'Hôpital « Maria Vittoria ».*

---

## VERONA O. – **A' propos de l'oxydation micro-organique de l'acide salicylique.**

Au cours de quelques recherches ayant trait à la scission micro-organique de certains glucosides, nous avons eu l'occasion d'observer la façon par laquelle avait lieu la démolition ultérieure des produits de l'hydrolise de la salicine.

Il a été, ainsi, évident que, dans un premier temps, la salicine passe à la saligénine, comme suit:



$$C_6H_4 \left\langle \begin{matrix} O - C_6H_{11}O_5 \\ CH_2OH \end{matrix} \right. + H_2O = C_6H_4 \left\langle \begin{matrix} OH \\ CH_2OH \end{matrix} \right. + C_6H_{12}O_6 \ ;$$

après quoi il y a lieu à l'oxydation à l'acide salicylique $C_6H_4\left\langle\begin{matrix}OH\\COOH\end{matrix}\right.$,

et, enfin, on observe une oxydation ultérieure de cet acide, dont l'on ne constate plus la présence dans les liquides culturaux à l'examen.

Tout en connaissant, à vrai dire, l'oxydation micro-organique des acides organiques, on a voulu rechercher — en se bornant à l'acide dont il est question, — l'influence que les différentes sources énergétiques peuvent avoir sur l'oxydation même, et c'est pourquoi l'on a fait des essais moyennant les formes bactériennes, — les plus communes du moins — que l'on rencontre dans le terrain agraire.

Une première épreuve a été pratiquée en cultivant dans le liquide cultural ainsi composé: eau 1000, tartrate d'ammoniaque 2, phosphate bipotassique 2, chlorure sodique et sulfate potassique traces, acide salicylique 0,3, des cultures brutes provenant de six échantillons de terre de différentes localités et de composition variée. Et cette épreuve a mis immédiatemente en évidence que la vitesse par laquelle l'oxydation de l'acide salicilique s'effectuait, était différente suivant les terrains. En général, *les terrains argileux se sont démontrés les plus actifs; un peu moins actifs les terrains à pâte moyenne et moins encore les terrains sablonneux.*

En bornant les recherches ultérieures aux terrains argileux, nous avons expérimenté l'influence des hydrates de carbone par rapport à leur espèce et à leur concentration différente; pour faire cela nous avons recouru à l'essai, pratiqué journellement, des liquides culturaux à l'aide du chlorure de fer qui, comme on le sait, donne, en présence de l'acide salycilique, une coloration brune-violette.

Nous avons donc préparé le liquide cultural comme suit: eau 1000, tartrate d'ammoniaque 2, phosphate bipotassique 2, chlorure sodique et sulfate potassique traces, acide salicylique 0,3, après quoi nous y avons additionné séparément du saccharose, du lactose, du glucose et du galactose dans les proportions de l'un pour cent. Après avoir inoculé les substratums moyennant un délayage aqueux de terre, nous avons cultivé à 24° C, des aliquotes de liquides culturaux, en faisant des essais fréquents à l'aide du chlorure de fer. Il en résulta que les substratums renfermant des dysaccharides auxquels faisaient suite les monosaccharides, présentaient la démolition de l'acide salicylique la plus rapide.

Ce comportement spécial, tout à fait opposé à celui que nous avons mis en évidence au cours des phénomènes se rapportant à la solubilisation micro-organique du carbonate de fer (1) pourrait être expliqué par le fait que, pour tirer de l'énergie respiratoire, le corps bactérique doit se livrer plus aisément à la démolition de l'acide qu'à celle des dysaccharides qui peuvent être utilisés plus lentement; tandis qu'il arrive le contraire pour les monosaccharides, lesquels sont démolis avant l'acide.

---

(1) Voir ce Bulletin, fasc. VI et X, 1930.

Il paraît que la concentration des sucres n'ait pas une influence excessive sur le dysaccharides; en tous cas, la démolition de l'acide va se vérifier avant que le dysaccharide soit attaqué; pour ce qui en est aux monosaccharides, les concentrations plus basses se sont démontrées les plus appropriées, car, dans ce cas, l'attaque de l'acide devait faire suite à la démolition des sucres.

Nous pouvons donc conclure que *l'acide salicylique existant dans les substratums contenant des dysaccharides, et ayant une concentration quelconque (naturellement entre certaines bornes), est démoli plus rapidement qu'à la présence des monosaccharides pour lesquels les concentrations élevées agissent dans un sens défavorable.*

Nous avons enfin recherché la façon par laquelle les différentes sources azotées agissent, et dans ce but nous avons additionné au liquide cultural ainsi constitué: eau 1000, saccharose 2, phosphate bipotassique 2, chlorure sodique et sulfate potassique traces, acide salicylique 0,3, les composés suivants: tartrate d'ammoniaque, nitrate potassique, sulphate d'ammoniaque, urée, asparagine, le tout dans les poids correspondants à 0, gr, 3252 pour mille d'azote. En inoculant et en cultivant d'une façon analogue à ce que nous avons mentionné plus haut, il est ressorti que la démolition de l'acide salicylique a été plus rapide à la présence du sulphate d'ammoniaque, et, ensuite, à la présence du nitrate potassique, de l'azote organique, du tartrate d'ammoniaque; elle a été considérablement plus lente dans le contrôle. On peut donc conclure qu'*afin d'obtenir une démolition plus rapide et plus complète de l'acide en question, il est nécessaire d'administrer aux cultures une source azotée appropriée.*

Enfin, cette dernière épreuve se rapportant au comportement des cultures pures, a montré que les bactéries: *fluorescens, discoformans, punctatum, vulgaris*, le *Rhizopus nigricans*, l'*Aspergillus varians* et *niger*, le *Penicillium crustaceum*, le *Tricothecium roseum*, sont actifs par rapport à l'acide salycilique.

***

En résumant, on peut donc tirer les conclusione suivantes:

1) l'acide salicylique, en de petites concentrations appropriées, peut être utilisé par les microrganismes du terrain, comme une source énergétique;

2) son utilisation, plus ou moins rapide et complète est en rapport avec la nature du terrain;

3) cette utilisation est influencée par des sources énergétiques appropriées, et notamment par les sources des hydrocarbobes (dysaccharides) et par celles azotées;

4) le fait en question est dû à des formes qui sont considérées communs et ubiquitaires.

*Laboratoire de Bactériologie du R. Institut Sup. d'Agrarie de Pise.*

**PUNTONI V. — Les modernes connaissances et les orientations nouvelles sur la biologie du bacille tuberculeux.**

**(Relation au IIIème Congrès de Microbiologie de Milan).**

Le bacille tuberculeux a été découvert il y a presque cinquante ans. Pendant le demi siècle qui suivit le mémoire classique de Robert Koch, les recherches expérimentales et les publications concernant le bacille en question ont atteint un nombre tellement élevé qu'il est presque impossible d'en faire une évaluation exacte et une étude complète.

Même si on voulait se borner à la production scientifique la plus récente, ce serait une tâche dépassant les forces d'un seul savant, que d'examiner complètement tout ce qui a paru sur le sujet de la biologie du bacille tuberculeux.

C'est pourquoi, en acceptant l'invitation qui me fut adressée par M. notre Président, de présenter à ce Congrès une relation à propos du bacille tuberculeux, j'ai jugé indispensable de restreindre l'exposition de ce sujet à quelques questions que j'ai choisies parmi celles qui offrent, à l'heure actuelle, un intérêt particulier.

En réalité, ce sont plusieurs les points qui passionnent à cet égard les savants, de sorte que le choix en devient embarassant. Mais en considération du caractère microbiologique propre à cette relation, j'ai pensé qu'il était convenable de toucher aux problèmes se rapportant strictement au bacille tuberculeux, plutôt qu'à ceux qui concernent l'étude des réactions de l'organisme (l'allergie, la vaccination, etc.) J'ai donc établi de concentrer mon étude sur les trois questions qui suivent, l'importance desquelles est témoignée par de nombreuses publications dont elles ont été l'objet.

1) La recherche du b. tuberculeux moyennant les méthodes culturales, dans les produits contenant une flore secondaire.

2) La filtrabilité du b. tuberculeux.

3) La perte de la virulence chez le b. tuberculeux.

I.

LA RECHERCHE DU B. TUBERCULEUX, MOYENNANT LES MÉTHODES CULTURALES, DANS LES PRODUITS CONTENANT UNE FLORE SECONDAIRE.

Le recherche du b. tuberculeux dans les produits pathologiques est, sans doute, très utile pour le diagnostic de plusieurs affections tuberculeuses et souvent elle est indispensable afin de préciser des syndromes à étiologie incertaine.

L'investigation microscopique moyennant la méthode de Ziehl-Neelsen a été toujours le procédé le plus utilisé. Des centaines de modifications qui tendaient à remplacer cette coloration classique, n'ont pas réussi à empêcher que, dans la plupart des laboratoires, on continue de l'employer même à présent, d'après ses règles originaires. Seulement quelques semplifications, comme par ex., celle de Gabbet, qui réunit les temps de la décoloration et de la récoloration, et quelques modifications comme celle de Kühne ([1]) (substitution de l'acide sulfurique par une solution aqueuse de chlorhydrate d'aniline) et celle de Könrich ([2]) (substitution de l'acide sulfurique par le sulfite sodique) ont rencontré du succès. Mais, en général, le principe démeure toujours le même: un premier temps de coloration à chaud avec une solution mordançante (type: la fuchsine de Ziehl), qui force l'obstacle opposé par la membrane cireuse du b. tuberculeux; un deuxième temps, au cours duquel on fait agir une ou plus substances décolorantes (acides, alcool, chlorhydrate d'aniline, sulfite sodique, etc.) qui décolorent le fond en respectant la coloration prise par le b. tuberculeux; et, enfin, un troisième temps pour la récoloration de contraste du fond. Dans leur ensemble, toutes les modifications ou les prétendues améliorations n'ont pas apporté dans la technique microscopique des progrès tels à mériter une exposition critique.

La même chose peut-on dire, à peu près, à propos des méthodes d'homogénéisation qui ont été employée sdan les but d'obtenir un enrichissement de bacilles tuberculeux et de faciliter leur démonstration microscopique. Ces méthodes introduites par Biedert ([3]) et basées, au début, sur l'emploi des alcalis caustiques, ont été ensuite mieux connues, lorsque Uhlenhut et Xilander([4]) ont proposé l'usage de l'antiformine qui, même aujourd'hui, est largement employée; enfin, elles ont subi de très nombreuses modifications et de prétendus perfectionnements qui, pour la plupart, se basent sur l'emploi des alcalis caustiques, des hypochlorites alcalins, de la bile ou d'autres substances chimiques aptes à dissoudre les masses muqueuses et albumineuses des produits pathologiques, en les fluidifiant et en permettant, par conséquent, d'obtenir, moyennant la centrifugation ou des stratifications, la concentration en petit volume des bacilles tuberculeux qui, ensuite, sont soumis à des colorations électives.

D'autres procédés d'enrichissement du b. tuberculeux sont basés sur des principes différents. C'est ainsi que quelques AA., — Spengler le

---

([1]) Centr. f. Bakt., 1890, 8, 293.
([2]) Deutsche med. Woch., 1920, 741.
([3]) Berlin. klin. Woch., 1886, 713.
([4]) Arbeit. aus d. K. Gesundheitsamt, 1909, fasc. 1.

premier ([5]) — eurent recours à la digestion des crachats ou d'autres produits tuberculeux par le moyen de ferments digestifs (pancréatine, pepsine, etc) qui, tout en les fluidifiant, n'endommagent nullement les propriétés tintoriales du b. tuberculeux. Par contre, d'autres AA., comme Favre et Devuns ([6]) ont recours à la digestion spontanée, en laissant les crachats à 37° pendant plusieurs jours, et la bonté de ce procédé est confirmée par Besançon, Mathieu et Philibert ([7]) qui mantiennent les crachats à 50°, et par d'autres chercheurs. Toutefois Richet fils et Hauduroy ([8]) ne seraient pas favorables à cette méthode et soutiennent la possibilité de la disparition des bacilles tuberculeux par suite d'un phénomène de lyse. Despeignes ([9]) recommande une méthode d'enrichissement basée sur le simple chauffage des crachats à l'étuve à 120°, ce qui sert à fluidifier les crachats et à englober les bacilles tuberculeux dans de petits flocons d'albumine coagulée qui surnagent dans le liquide; Renaux ([10]) confirme ce procédé, en le modifiant par une successive homogénéisation, moyennant la soude. Enfin Schiller ([11]) affirme qu'on peut obtenir un enrichissement du b. tuberculeux dans les crachats, par suite d'une véritable multiplication, additionnant, en parties égales, un mélange de 75 p. de glycérine et 25 p. d'eau et 2-5 g. de glucose.

Mais si l'on considère dans son ensemble la très grande quantité de travaux publiés sur la question de l'homogénéisation, on arrive à des conclusions assez modestes. En effet, non seulement les dernières années ne nous ont pas apporté la découverte d'une méthode décidément supérieure aux procédés plus anciens et surtout à celui qui est le plus repandu, c'est-à-dire le procédé basé sur l'antiformine; mais on met aussi en doute les avantages de ces procédés par rapport à la recherche microscopique directe. En réalité, les méthodes d'homogénéisation sont bien peu employées dans les laboratoires et lorsque l'examen microscopique direct donne des résultats négatifs, on aime plutôt avoir recours à l'épreuve sur le cobaye ou à l'épreuve culturale, au lieu de se servir de ces méthodes. En admettant les conclusions de Poiré et Arzeno-Caranza ([12]) qui ont examiné 1017 crachats, en pratiquant plus de 10.000 homogénéisations basées sur 120 méthodes différentes, les différences entre la recherche microscopique directe et l'homogénéisation seraient excessivement petites (341 rés. pos. moyennant l'examen direct, et 344 rés.

---

([5]) Deutsche med. Woch., 1895, 244.
([6]) C. R. Soc. Biol., vol. 85, 1921, pag. 858.
([7]) C. R. Soc. Biol., vol. 86, 1922, pag. 681-682; vol. 87, 1922, pag. 62.
([8]) C. R. Soc. Biol., vol. 95, 1926, pag. 556.
([9]) C. R. Soc. Biol., vol. 84, 1921, pag. 182.
([10]) C. R. Soc. Biol., vol. 84, 1921, pag. 334.
([11]) Centr. f. Bakt., I, O., 1925, vol. 96, pag. 92; C. R. Soc. Biol., vol. 97, 1927, pag. 1274.
([12]) C. R. Soc. Biol., vol. 95, 1926, pag. 1173.

pos. moyennant l'omogénéisation, sur un total de 1017 examens pratiqués); en tous cas ces Auteurs recommandent, comme méthode à préférer, celle de Despoignes ou celle de Renaux.

L'épreuve biologique qu'on pratique, d'habitude, par l'inoculation au cobaye de matériel pathologique, éventuellement débarrassé des microbes accessoires, a été pour le passé et reste encore aujourd'hui, un des procédés les plus sûrs pour le diagnostic de la tuberculose et il faut l'employer surtout pour les produits, comme les sédiments urinaires, renfermant souvent des microbes simili-tuberculeux capables de fausser les résultats.

Quelques AA. ont proposé, comme modification utile, de changer la voie d'introduction des produits tuberculeux, en pratiquant, par ex., l'inoculation intra-ganglionnaire directe (Knorr et Friedrich ([13]), Lutz ([14])). Cependant, dans la plupart des laboratoires, l'épreuve biologique est toujours pratiquée d'après les anciennes règles.

Les essais d'un diagnostic indirect de la tuberculose moyennant les réactions immunitaires et notamment à l'aide de l'agglutination et de la déviation du complément, ont déterminé une littérature extrèmement abondante. L'agglutination, proposée dès 1898 par Arloing ([15]), basée sur les cultures homogénéisées bien connues, et étudiée par Arloing et Courmont pour longtemps, est un procédé qui est resté dans le domaine des recherches scientifiques et qui n'a jamais trouvé un large consentement en ce qui concerne son application pratlque. Quant à la réaction de fixation du complément, elle a été appliquée au diagnostic de l'infection tuberculeuse, la première fois, par Widal et Le Sourd ([16]) et puis par Camus et Pagniez ([17]), mais il paraît qu'à son début, après une période d'essais, elle n'a pas intéressé excessivement les sérologistes. Ce fut seulement ensuite, lorsque Besredka ([18]) proposa son antigène intégral (oeuf-culture stérilisée) et quand Boquet et Nègre ([19]) préparèrent l'antigène methylique bien connu, que les travaux consacrés à ce sujet se multiplièrent, soulevant un grand intérêt. Ces deux antigènes ont été reconnus excellents et très sensibles, quoique bien différents dans leur constitution. En effet, l'antigène de Besredka est composé intégralement de bacilles tuberculeux développés dans un milieu liquide à l'oeuf alcalin et conservés dans le même milieu, après sté-

---

([13]) Münch. med. Woch., 1930, pag. 173.
([14]) Centr. Bakt., I, O., vol. 114, 1929, pag. 232.
([15]) C. R. Acad. Sc., vol. 126, 1898, pag. 1319, 1398, 1550.
([16]) Soc. Méd. des Hôp., 1901.
([17]) C. R. Soc. Biol., vol. 53, 1901, pag. 734.
([18]) Ann. Inst. Pasteur, XXXV, 1921, pag. 291.
([19]) C. R. Soc. Biol., vol. 83, 1920, pag. 960; vol. 86, 1922, pag. 581 e 717; vol. 89, 1923, pag. 138; Revue de la Tub., 1920, I, pag. 257.

rilisation préalable, tandis que l'antigène de Boquet et Nègre est partiel et constitué précisément de l'extrait méthylique des bacilles préalablement lavés avec acétone: résultant, en somme, de phosphatides.

Les innombrables travaux publiés sur la fixation du complément comme méthode diagnostique dans la tuberculose concordent, la plupart, sur la grande valeur de ce procédé. Mais vis-à-vis d'une telle unanimité de suffrages, on ne peut renoncer à faire remarquer que ce procédé n'a pas eu, dans la pratique, une diffusion proportionnée à ce qu'on pouvait s'en attendre. Tuelles sont les causes de ce fait?

Il faut considérer avant tout qu'une méthode diagnostique a une valeur intrinsèque non absolue, et qui peut être évaluée seulement en rapport avec les autres méthodes. Si la réaction de Wassermann a atteint une grande valeur pratique pour le diagnostic de la syphilis, tout en étant une méthode qui se base, non pas sur la spécificité entre antigène et anticorps, mais sur la labilité colloïdale des sérums, cela dépend non seulement de la constance remarquable de ses résultats, mais aussie de la difficulté d'appliquer d'autre méthodes diagnostiques comme, par ex., la recherche directe du spirochète et l'épreuve biologique chez les animaux.

La réaction de fixation pour la tuberculose — procédé qui paraît être basé, lui-aussi, sur les phénomènes de labilité colloïdale plutôt que sur la réaction spécifique des antigeno-anticorps (Verge et Nicolas ([20]), et Sabatucci ([21])) — présente avant tout, en comparaison avec la Wassermann, une moindre constance de résultats, soit dans le sens qu'elle ne décèle pas certains procèssus tuberculeux quand ils existent, soit dans le sens qu'elle est positive quand la maladie à l'examen n'est pas de nature tuberculeuse, ce qui, suivant quelques AA., pourrait être en relation avec une spécificité peu élevée, tandis que, suivant d'autres, elle serait en rapport avec la coéxistence de processus tuberculeux latents et d'affections à étiologie tout à fait différente (V. Urbain, *La réaction de fixation dans la tuberculose.* Masson Ed., 1925).

En outre, la réaction de fixation, en ce qui concerne le diagnostic de la tuberculose, se montre pratiquement bien inférieure à la recherche directe du b. tuberculeux, à l'épreuve biologique et à la radiologie.

Après avoir joui d'une certaine diffusion, la réaction de fixation peut être considérée, aujourd'hui, comme presque abandonnée. Toutefois, les études bien nombreuses qu'on en a fait ont amené des acquisitions biologiques utiles, parmi lesquelles la plus remarquable c'est l'action antigénique de l'extrait méthylique de Boquet et Nègre. Et si on me

---

([20]) C. R. Soc. Biol., vol. 88, 1923, pag. 185.
([21]) Tesi di laurea. Fac. med. di Roma, 1927.

consente de faire une courte digression, je vais m'arrêter ici un moment pour en parler.

L'action fixatrice de cet antigène, qui est un composé de phospholipoïdes, c'est-à-dire de phosphatides, n'a rien de surprenant, car, étant donné la probable nature physico-chimique de la réaction de fixation dans la tuberculose, l'action de cet antigène est la même que celle de la lécithine dont on connait parfaitement la valeur fixatrice. En effet, aujourd'hui l'on pense que la réaction de fixation est en relation avec les phosphatides du b. tuberculeux plutôt qu'avec les protéines tuberculeuses; ces dernières jouent, par contre, un rôle très important dans les réactions allergiques.

Mais ce qui peut surprendre c'est plutôt l'action antigénique que cet extrait possède *in vivo*, soit dans le sens de déchaîner la production des anticorps, soit dans le sens d'influencer favorablement les processus tuberculeux évolutifs ([22]). Il se peut que certains lipoïdes puissent agir comme des antigènes; mais les connaissances actuelles nous portent à admettre que ces substances, désignées par le nom de « *aptènes* », soient aptes à produire une réaction de l'organisme avec formation d'anticorps, seulement à la condition d'être véhiculées par des substances protéiques, parmi lesquelles on préfère, d'habitude, le sérum de porc.

Quelques AA. ont considéré l'extrait méthylique précisément comme un aptène, mais comme il peut réaliser une action antigénique *in vivo*, même sans addition artificielle de substances protéiques, on a pensé que cette fonction puisse être remplie par des traces de protéines du b. tuberculeux charriées pendant l'extraction. Boquet et Nègre semblent enclins à admettre ce fait quand ils affirment la possibilité d'en obtenir des réactions allergiques du type des réactions tuberculiniques avec l'antigène méthylique.

Mais l'explication n'est pas tout à fait univoque car, d'après Pinner ([24]), l'extrait méthylique, bien que débarassé de toute trace protéique moyennant la digestion tryptique et la dialyse (et par conséquent étant devenu totalement inactif au point de vue des réactions allergiques à type tuberculinique), garde inaltéré son pouvoir antigénique *in vivo* et détermine la production d'anticorps.

On se trouverait donc vis-à-vis de substances rapportables au groupe des lipoïdes et ayant un véritable pouvoir antigène, comparable à celui des protéines.

---

([22]) V. *Boquet* et *Nègre*, « Antigénothérapie de la tuberc. ». Masson éd., Paris 1927.
([23]) C. R. Soc. Biol., vol. 87, 1923, pag. 1068.
([24]) Americ. Rev. of Tuberc., vol. 16, 1927, pag. 714 e vol. 17, 1928, pag. 86.

***

Or, tandis que les recherches microscopiques, biologiques (épreuve chez le cobaye) et sérologiques, pratiquées tout récemment dans le champ du diagnostic de la tuberculose, n'ont apporté aucun perfectionnement essentiel et remarquable, l'application de méthodes nouvelles à la recherche culturale du b. de la tubercolose dans les produits souillés par la flore accessoire, nous a permis de faire quelques progrès.

On sait très bien que dans les recherches bactériologiques l'investigation culturale donne souvent des résultats positifs alors que la simple observation microscopique n'en a pas donnés, ce qui arrive surtout, quand on a à faire avec des produits à flore mixte. Mais dans le cas du b. tuberculeux la recherche culturale présente des difficultés de beaucoup supérieures à celles qu'on rencontre d'ordinaire.

À cause de la lenteur du développement du b. tuberculeux en comparaison de presque toutes les autres bactéries et des mycètes, les milieux ensemencés avec des produits à flore mixte, se trouvent complètement envahis par un développement luxuriant de germes secondaires, avant le début de la croissance des colonies tuberculeuses, croissance qui est définitivement entravée quand le milieu est complètement envahi et épuisé.

Il n'est donc pas possible, ou, du moins, il n'est pas pratique, d'isoler en culture le b. tuberculeux mixte à d'autres germes, en employant la technique habituelle de la dissémination. Pour atteindre le but il faut réaliser un enrichissement préalable du b. tuberculeux, enrichissement qu'on peut obtenir moyennant la destruction partielle ou totale des microbes accessoires. Il est assez facile de réaliser cet enrichissement car le b. tuberculeux possède, vis-à-vis des agents physiques et chimiques de destruction, une résistance supérieure à celle qui est opposée par la presque totalité des formes bactériennes végétatives. À vrai dire, les spores peuvent résister encor plus que le b. tuberculeux, mais dans plusieurs produits pathologiques frais elles sont moins fréquentes qu'on ne le suppose, et en outre — ainsi que nous le verrons plus loin — leur développement peut être entravé par différents artifices techniques et culturaux.

Une des plus vieilles tentatives pour rendre pratiquement utilisable la recherche culturale du b. de la tuberculose, est celle de Spengler [25]. Déjà en 1900, cet Auteur pensa de détruire les microbes accessoires des crachats, étalés en couche légère sur un papier buvard dans

---

[25] **Zeitschr. f. Hyg., vol. 42, pag. 90.**

une boîte de Petri, par l'action des vapeurs de formol, qui se dégageaient de quelques gouttes de formol versées sur de l'autre papier buvard mis dans le couvercle de la boîte; il observa, à la température de 20-25°, et dans un délai de deux heures, la destruction des microbes accessoires et la survivance du b. tuberculeux qui, ensuite, pouvait être cultivé sur sérum coagulé glycériné.

Un peu plus tard, Piatkowski([26]) a obtenu le même résultat en faisant agir directement 2-3 gouttes de formaline sur du matériel émulsionné en 10 c. c. de bouillon, et en ensemençant, tous les quarts d'heure, sur gélose simple (contrôle pour les germes ordinaires et acido-résistants communs) et sur gélose glycériné.

Mais ces méthodes au formol n'ont pas rencontré de succès dans la pratique, de sorte qu'il faut arriver jusqu'aux tentatives de Uhlenhuth ([27]) en 1908-1909, avec l'antiformine, pour remarquer un certain intérêt, de la part des laboratoires, en ce qui concerne les procédés culturaux pour le diagnostic de la tuberculose. Le procédé de Uhlenhuth consiste en ce qu'on mélange en parties égales les crachats et la solution d'antiformine à 30%; on laisse à contact pendant une heure, on centrifuge, puis on lave le sédiment et enfin on ensemence sur sérum glycériné ou sur pomme de terre glycérinée.

C'est en suivant cette modalité, ou les modifications plus ou moins importantes introduites par Weber et Dieterlen ([28]), par Dongez ([29]), Lyall ([30]), qui diminuèrent la quantité de l'antiformine, que la préparation des crachats et, en général, des produits tuberculeux avec flore accessoire, fut utilisée assez fréquemment dans les laboratoires, et recommandée en plusieurs traités. Et récemment, même après l'introduction d'autres procédés dont nous allons parler tout de suite, elle est employée par quelques AA. comme Caucik et Mazepova ([31]), et par Hermann ([32]), qui l'a jugée même supérieure au procédé à l'acide sulfurique (V. plus loin), et par Meyer ([33]), Capuani ([34]), etc.

Cependant, il faut observer que, malgré de nombreuses recherches, les procédés à l'antiformine n'ont jamais joui d'une grande diffusion, et c'est seulement par l'introduction de méthodes plus récentes, qu'on

---

([26]) Deutsche med. Woch., vol. 30, 1904, pag. 878.
([27]) Berliner klin. Woch., 1908, n. 29; Centr. f. Bakt., vol. 42; Tub. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh., vol. 32, 1909, pag. 158.
([28]) Tub. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh., 1912, fasc. 12.
([29]) Zeitschr. f. Hyg., vol. 75, 1913, pag. 185.
([30]) Americ. Rev. of Tub., 5, n. 11, janvier 1922.
([31]) Americ. Journal Publ. Health, 1925, 679.
([32]) Centr. Bakt., I, O., vol. 102, 1927, pag. 169.
([33]) Centr. Bakt., I, O., vol. 103, 1927, pag. 345.
([34]) Boll. Ist. Sieroter. Mil., vol. 8, 1929, pag. 405.

a considérablement apprécié les avantages de la recherche culturale du b. tuberculeux.

Ces méthodes modernes ont leur point de départ dans les recherches de S. A. Petroff ([35]) qui publia, en 1915, son procédé bien connu, qui est pratiqué en deux temps: dans le premier on vise à préparer le matériel pathologique à flore mixte, en le traitant moyennant l'hydrate sodique à 4% qui a pour but la destruction de la plupart des germes constituant la flore secondaire, sans altérer la vitalité du b. tuberculeux. En cela le procédé de Petroff substitue les substances auparavant conseillées, par l'hydrate sodique qui avait été jusqu'alors utilisé pour l'homogénéisation des crachats seulement dans le but des recherches microscopique et non pour des investigations culturales.

Le second temps, qui, à vrai dire, est la partie originale de cette méthode, vise à utiliser un milieu nutritif d'éléction, qui empêche le développement des germes secondaires éventuellement échappés au premier temps. Afin d'atteindre ce but, Petroff a trouvé opportun d'additionner au milieu à l'oeuf, du violet de gentiane dans la proportion de 1 : 10.000.

L'utilité de la méthode de Petroff ne se borne pas à permettre au bactériologiste un isolement facile des bacilles tuberculeux de produits profondément souillés par une flore secondaire, mais elle présente aussi vis-à-vis des recherches microscopiques, un avantage diagnostique réel, en tant qu'un certain nombre de produits pathologiques qui résultent microscopiquement négatifs, donnent lieu à un développement du bacille tuberculeux.

Dans ce sens, le procédé de Petroff, contrôlé par plusieurs AA., parmi lesquels MM. Limousin ([36]), Despeignes ([37]), Tsetsu ([38]), La Bourdellés et Henry ([39]), Moreau ([40]), Kristensen et Iensen ([41]), Prospert ([42]), Iensen et Husted ([43]), Hatrik ([44]), Capuani ([45]) etc., a été largement confirmé dans la pratique.

La méthode de Petroff a amené plusieurs AA. à la recherche de modifications utiles, surtout dans le sens d'améliorer le milieu nutritif en ce qui concerne sa composition et son électivité.

---

([35]) Journal of exp. Med., 1915, pag. 22.
([36]) Ann. Inst. Pasteur, 1921.
([37]) C. R. Soc. Biol., vol. 86, 1922, pag. 931; vol. 87, 1922, pag. 121.
([38]) C. R. Soc. Biol., vol. 87, 1922, pag. 22.
([39]) Arch. Inst. Pasteur Afrique du Nord, II, 1922, pag. 625.
([40]) Révue Tuberc., III, 1922, pag. 381 e 385.
([41]) C. R. Soc. Biol., vol. 90, 1924, pag. 45.
([42]) C. R. Soc. Biol., vol. 91, 1924, pag. 542.
([43]) C. R. Soc. Biol., vol. 97, 1927, pag. 197.
([44]) Centr. Bakt., I, O., vol. 89, 1928, pag. 114.
([45]) Boll. Ist. Sieroter. Mil., vol. 8, 1929, pag. 405.

Comme on avait remarqué que le violet de gentiane, tout en étant doué d'une certaine électivité par rapport au b. tuberculeux, ne se montrait pas, même vis-à-vis de ce dernier, assez favorable, (de façon que le b. tuberculeux cultive plus facilement et plus rapidement dans le milieu de Petroff sans addition de violet, on a voulu rechercher si d'autres substances colorantes pouvaient mieux correspondre au but visé.

Corper et Uyei [46] ont proposé alors le cristal-violet, qui serait à préférer pour ses résultats et qui permettrait de rendre élective même la pomme de terre (immersion pendant quelques heures dans une solution de carbonate sodique additionné du 0,093% de cristal-violet).

Mais d'après les recherches de Sanchez [47] il n'y aurait pas une grande différence entre les divers violets essayés (crystal-violet, violet de méthyle, violet de gentiane, violet de lélie).

Petragnani [48] a fait des recherches sur l'électivité des milieux additionnés de substances colorantes; cet A. a conclu que le vert de malachite est bien plus approprié que le violet de gentiane pour rendre électifs les milieux nutritifs, car il arrête complètement le développement des moisissures et des autres germes, sans endommager le développement du b. tuberculeux. Comme milieux nutritif, Petragnani adopta un mélange de lait-oeuf-fécule additionné de vert de malachite. Pour la préparation des crachats il a utilisé l'hydrate sodique à 4% suivant Petroff, sauf quelques petites modifications.

Successivement, plusieurs AA. ont confirmé la bonté de cette méthode, savoir la supériorité du vert de malachite vis-á-vis des autres substances colorantes, et nous citerons, entre autres, Blechman [49], Chiarello ([50], Frongia [51], Bertrand [52], Castelli [53], Lichtenstein [54], Blumenberg [55], Accorimboni [56], Raffo [56 *bis*], Terzani [56 *ter*].

Mais à côté des procédés qui, d'après celui de Petroff, utilisent la soude à 4% pour la préparation préliminaire des matériaux tuberculeux à flore mixte, il y en a d'autres par lesquels on pratique cette préparation au moyen de l'acide sulfurique, envers lequel le b. tuberculeux

---

(46) Americ. Rev. of Tuberc., 1927, pag. 299.
(47) Archiv. Inst. Nac. de Hig. Alfonso XIII, oct. 1924.
(48) Lo Sperimentale, vol. 77, 1923; Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1926, pag. 173.
(49) C. R. Soc. Biol., vol. 96, 1927, pag. 1033.
(50) Rinascenza Medica, 1927, n. 22.
(51) Giornale di Batter. e Immun., 1927, pag. 705.
(52) Ann. Méd. Vet., 1928, pag. 337.
(53) Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1928, pag. 633.
(54) Centr. Bakt., I, O., vol. 108, 1928, pag. 239.
(55) Med. klin., 1929, pag. 1136.
(56) Riv. di Patol. e Clin. della Tub., 1930, 221.
(56*bis*) Pathologica 1930, pag. 499.
(56 *ter*) Giorn. Clin. Med. 1930, n. 1.

se montre très résistant, sûrement à cause de l'enveloppe de cire qui le protège.

Bossan et Baudy ([57]), ont proposé, les premiers, en 1922, le traitement préalable des crachats moyennant une solution à 10% d'acide sulfurique pendant 10 minutes et la culture successive sur pomme de terre glycérinée. La bonté de cette méthode a été confirmée, avant tout, par Verdina ([58]) et Azzi ([59]).

Peu après, des recherches analogues aux précédentes ont été instituées par Loewenstein ([60]) et par Sumiyoshi ([61]): ces AA., expérimentant sur des substances différentes, ont arrêté eux-aussi leur attention surtout sur l'acide sulfurique à 40% et, tandis que Sumiyoschi démontrait que cette solution pouvait être ajoutée aux crachats en partie égale sans déterminer la destruction du b. tuberculeux, M. Loewenstein adoptait une méthode pour isoler des crachats ce bacille. Suivant cette méthode on ajoutait aux crachats, un cinquème de la solution d'a. sulfurique a 40%, on lavait àfin d'éliminer le surplus d'acide et on cultivait ensuite sur pomme de terre glycérinée (ou même sur des milieux à l'oeuf).

Hryntschak ([62]), Suranyi et Putnoky ([63]), Ramos-Passos([64]), Pesch et Sinchowitz ([65]), Schattner ([66]) et Meller ([67]) ont confirmé la résistance du b. tuberculeux à l'ac. sulfurique, et par cela la praticité du traitement préliminaire, moyennant l'ac. sulfurique, des crachats, des urines ou d'autres produits tuberculeux à flore mixte. Remarquables à cet égard sont les recherches de Pulcher ([67 *bis*]), qui démontrent la survivance du b. de Koch après 5 heures d'immersion dans une solution à 41% d'acide sulfurique. Mais ce fut surtout M. Hohn ([68]) qui, dans une série de contributions et de recherches pratiquées sur vaste échelle, a mis en valeur le procédé à l'acide sulfurique, de sorte qu'aujourd'hui il est connu plutôt sous la dénomination de méthode de Hohn que par le nom de méthode de Bossan et Baudy ou d'autres AA. qui l'avaient bien auparavant étudié.

La méthode de Hohn est basée sur l'emploi de la solution d'acide

---

([57]) C. R. Soc. Biol., vol. 87, 1922, pag. 958.
([58]) Arch. per le Sc. Mediche, vol. 46, 1923, pag. 368.
([59]) Arch. per le Sc. Mediche, vol. 47, 1924, pag. 137.
([60]) Wiener klin. Woch., 1924, pag. 231.
([61]) Zeitschr. f. Tuberk., vol. 39, 1924, pag. 333.
([62]) Wiener klin. Woch., 1924, pag. 337.
([63]) Centr. f. Bakt., I, O., vol. 94, 1925, pag. 401.
([64]) C. R. Soc. Biol., vol. 93, 1925, pag. 1152 e 1552.
([65]) Münch. med. Woch., 1925, pag. 1592.
([66]) Wiener klin. Woch., 1925, pag. 1035.
([67]) Zeitschr. f. Tuberc., vol. 44, 1926, pag. 387.
([67bis]) Archivio per le scienze mediche, 1927.
([68]) Centr. f. Bakt., I, O., vol. 98, 1926, pag. 460; vol. 103, 1927, pag. 342; v. 113, 1929, pag. 366; Münch. med. Woch., 1926, pag. 609 e 2162; 1929, pag. 1120 e 1508.

sulfurique à 10% (ou, mieux encore, de solutions variables de 6 à 12% suivant les cas) qu'on ajoute en excès aux produits pathologiques laissant agir pendant 20-30 minutes; ensuite on centrifuge et on ensemence le sédiment ainsi obtenu, sans qu'il faille neutraliser, sur un milieux composé d'oeuf et de bouillon glycériné (PH 6,3) très analogue au milieu de Lubenau. Plus récemment l'A. a conseillé d'ajouter de l'hématine à son milieu et il a toujours insisté sur la nécessité de maintenir une humidité élevée dans le milieu cultural.

Cette dernière particularité que les profanes de technique bactériologique pourraient considérer comme une pédanterie, est, au contraire, extrèmement importante et l'insistance de Hohn à ce propos est absolument justifiée. Tous ceux qui se sont occupés des cultures du b. tuberculeux, savent très bien que le moindre dessèchement du milieu peut provoquer l'arrêt du développement, tandis qu'au contraire, la conservation d'un degré élevé d'humidité, obtenu, le cas écheant, moyennant l'addition de liquides appropriées aux milieux solides, et entretenu à l'aide du capuchonnage des tubes, sert très bien pour assûrer, même tardivement, le développement d'un nombre même fort petit de germes ensemencés.

Après les publications de Hohn, les confirmations de la bonté et de la supériorité de la méthode à l'ac. sulfurique, pratiquée dans la plupart des cas suivant les particularités techniques suggérées par cet Auteur, étaient devenues tellement nombreuses, à créer un consentement unanime, ainsi que le démontrent les contributions dues à Schmidt ([69]), Schrader ([70]), Suetterlin ([71]), Sonnenschein ([72]), Roguski ([73]), Seelemann et Klingmüller ([74]), Engel ([75]), Jacobi ([76]), Roloff ([77]), Matthies ([78]), Mancini ([79]), Loewy ([80]), Lang ([81]), Kemkes ([82]), Karsten ([83]), Huck et Kramer ([84]), Hauptmann et Burtscher ([85]), Dimsta ([86]), Corper ([87]), Suqué ([88]),

---

([69]) Centr. f. Bakt., I, O., vol. 101, 1927, pag. 364.
([70]) Centr. f. Bakt., I, O., vol. 102, 1927, pag. 163; Med. Klin., 1927, pag. 838.
([71]) Münch. med. Woch., 1927, pag. 1180.
([72]) Münch. med. Woch., 1927, pag. 1540.
([73]) C. R. Soc. Biol., vo.. 97, 1927, pag. 961.
([74]) Centr. Bakt., I, O., vol. 104, 1927, pag. 482.
([75]) Deutsche med. Woch., 1927, pag. 1001.
([76]) Klin. Woch., 1927, pag. 2472.
([77]) Zeitschr. Tuberk., vol. 52, 1928, pag. 153.
([78]) Centr. f. Inn. Med., 1928, pag. 782; Klin. Woch., 1928, pag. 351.
([79]) Annali d'Igiene, n. 4-5, 1928.
([80]) Münch. med. Woch., 1928, pag. 2096.
([81]) Boll. Ist. Sieroter. Mil., vol. 7, 1928, pag. 285.
([82]) Deutsche med. Woch., 1928, pag. 1918.
([83]) Deutsche Tierärztl. Woch., 1928, pag. 668.
([84]) Zeitschr. Inf. Krankh., 1928, vol. 33, pag. 77.
([85]) Wiener klin. Woch., 1928, pag. 84.
([86]) Arch. f. klin. Chir., vol. 150, 1928, pag. 646.
([87]) Il. amer. med. Ass., vol. 91, 1928, pag. 371.
([88]) Bol. Tecnico Direcion gen. de Sanidad, Madrid 1929, 5.

Renç ([89]), Orzechowski ([90]), Krause ([91]), Verdina ([92]), Knorr et Friedrich ([93]), etc. Il s'agit d'une remarquable quantité d'observations, faites par d'innombrables AA. Sonnenschein, p. ex., en se servant de la méthode de Hohn, a obtenu 183 cultures positives sur 1085 échantillons pathologiques qui s'etaient montrés négatifs à l'examen microscopique.

Il paraît que le traitement préliminaire avec l'ac. sulfurique agit d'une façon si efficace sur les microbes concomitants, que la plupart des AA. qui l'ont adopté, n'ont pas eu la nécessité de se servir de la culture sur des milieux électifs (lesquels, d'après quelques AA., offrent toujours pour b. tuberculeux une certaine difficulté de développement) et ils ont préféré les milieux ordinaires, comme la pomme de terre ou l'oeuf glycérinés. Toutefois il y a eu quelques AA. (pas nombreux et, à vrai dire, très peu suivis) qui, dans le but d'améliorer encore les procédés de recherche culturale ont réuni le traitement préliminaire à l'aide de l'ac. sulfurique, avec les milieux électifs (Lichtenstein ([94]), par ex., pratique le traitement préliminaire avec l'ac. sulfurique et des cultures sur milieu Petragnani).

D'autres encore, comme Wolters ([95]) et Korthof ([96]) utilisent le terrain à l'oeuf de Besredka, au lieu des milieux susmentionnés, affirmant que le milieu de Besredka offre plus d'avantages que les autres milieux.

Maintenant, après avoir exposé les procédés principaux qu'on emploit aujourd'hui pour la recherche du b. tuberculeux dans les matériaux contenant une flore accessoire, il reste à établir quelle est, effectivement, leur valeur par rapport à d'autres méthodes de recherche.

Un fait ressort avant tout: c'est la supériorité de la méthode culturale sur la méthode de recherche microscopique, soit directe, soit avec enrichissement préalable.

Bien peu nombreux sont les AA. qui, comme Brechmann ([97]), Harada ([98]), Orzechowski ([99]) jugent que, surtout en ce qui concerne l'examen des crachats, la méthode culturale ne représente pas un véritable progrès sur le procédé microscopique, spécialement si celui-ci est précédé par l'enrichissement à l'aide de l'antiformine. Mais, désormais, il est hors de doute qu'un bon pourcentage de produits pathologiques résultés négatifs même après un examen microscopique très soigné, puis-

---

([89]) Câs. lék. cês., 1929, pag. 316.
([90]) Centr. f. Bakt., I, O., vol. 111, 1929, pag. 362.
([91]) Centr. tuberk., vol. 54, 1929, pag. 227.
([92]) Riv. di Patol. e Clin. della Tuberc., 1929, pag. 190.
([93]) Münch. med. Woch., 1930, pag. 173.
([94]) Centr. Bakt., I, O., vol. 108, 1928, pag. 239.
([95]) Deutsche tierärztl. Woch., 1928, pag. 666.
([96]) Versl. en Meded. betr. de Volksgez, 1928, pag. 1257.
([97]) Centr. Bakt., I, O., vol. 111, 1929, pag. 26.
([98]) Centr. Bakt., I, O., vol. 113, 1929, pag. 266.
([99]) Centr. Bakt., I, O., vol. 111, 1929, pag. 362.

sent se montrer positifs lors de la recherche culturale. La supériorité de la méthode en question se manifeste, bien plus que pour les crachats, pour le diagnostic de la tuberculose urinaire; ici, le résultat basé sur la seule investigation microscopique a presque toujours une valeur bien modeste, soit à cause de la difficulté de déceler le b. tuberculeux dans les cas de tuberculose authentique, soit à cause de la probabilité de rencontrer des b. simili-tuberculeux acido-résistants, dont la diagnostic différentiel n'est pas aussi facile comme le croient maints auteurs.

La valeur des méthodes culturales, comparativement à l'inoculation chez le cobaye est plus débattue. Vis-à-vis de quelques chercheurs qui soutiennent d'une façon absolue les procédés culturaux, il y en a plusieurs, d'après lesquels ces derniers ne pourraient pas remplacer, pour la proportion des résultats positifs, la méthode biologique basée sur l'inoculation au cobaye. Parmi ces AA. nous citérons Caussade et Cribier ([100]), Schmidt et Sylla ([101]), Jensen et Husted ([102]), Suetterlin ([103]), Herrmann ([104]), Sveany et Evanoff ([105]), Huck et Cramer ([106]), Karsten ([107]), Kemkes ([108]), Roloff ([109]), Wohlfeil et Jacobi ([110]), Schulte-Tigges ([111]), Lutz ([112]), Knorr et Friedrich ([113]), etc.

Mais, même en admettant la faveur prévalente que l'inoculation au cobaye rencontre en comparaison des méthodes culturales, il n'est pas possible de méconnaître certains avantages fondamentaux que ces dernières peuvent vanter sur l'inoculation.

Et ces avantage consistent, avant tout, dans une plus grande commodité et praticité, car il est évident qu'une méthode culturale est toujours préférable sous ce rapport, à la méthode biologique.

Ensuite, il y a la rapidité, puisque les méthodes culturales peuvent donner un résultat en 2-3 semaines en moyenne, c'est-à-dire entre la moitié du temps qui est nécessaire lors de l'emploi de la méthode biologique. Ce délai peut être encore abrégé, si, comme Despeignes et d'autres AA. ont conseillé et comme nous mêmes nous avons pu vérifier sur le milieu de Petroff, au lieu d'attendre la formation des colonies tuberculeuses visibles, on fait, de temps en temps, des préparation moyen-

---

([100]) Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. de Paris, 1923, pag. 18.
([101]) Zeitschr. f. Tub., vol. 45, 1926, pag. 360.
([102]) C. R. Soc. Biol., vol. 97, 1927, pag. 197.
([103]) Münch. med. Woch., 1927, pag. 1180.
([104]) Centr. Bakt., I, O., vol. 102, 1927, pag. 169.
([105]) Americ. Rev. Tub., 1928.
([106]) Zeitschr. inf. Krankh. Haustière, vol. 33, 1928, pag. 77.
([107]) Deutsche Tierärztl, 1928, pag. 668.
([108]) Deutsche med. Woch., 1928, pag. 1918.
([109]) Zeitschr. Tub., vol. 52, 1928, pag. 153.
([110]) Med. Klin., 1929, pag. 1025.
([111]) Zeitschr. Tub., vol. 54, 1929, pag. 230.
([112]) Centr. Bakt., I, O., vol. 114, 1929, pag. 232.
([113]) Münch. med. Woch., 1930, pag. 173.

nant le produit du raclage pratiqué avec une öse, à la surface des milieux ensemencés.

Enfin, ainsi que plusieurs AA. l'ont établi, il se présente quelque cas où l'on obtient l'épreuve culturale positive, là où l'inoculation chez le cobaye ne produit pas d'infection. Loewenstein [114], Hryntshak [115] et d'autres encore, pensent qu'une telle éventualité arrive même lorsqu'on rencontre des cas de tuberculose déterminée par des souches aviaires, lesquelles, comme on le sait, n'ont pas un grand pouvoir pathogène vis-à-vis du cobaye.

De notre part, nous ajoutons que les procédés culturaux peuvent se démontrer supérieurs à l'épreuve biologique dans tous les cas d'infections déterminées par des bacilles tuberculeux très atténués, dont l'action pathogène expérimentale est légère et exige des mois pour se révéler, si toutefois elle ne vient pas à manquer.

Les méthodes culturales, et spécialement celles qui se basent sur le traitement préliminaire à l'ac. sulfurique doivent donc être considérées très utiles dans la pratique et méritent d'être couramment employées dans les laboratoires.

En outre, si on prend en considération l'intérêt qu'elles ont suscité et l'évolution qu'elles ont subi, on doit reconnaître que ces méthodes qui réposent sur l'étude des propriétés biologiques particulières du b. tuberculeux, constituent le progrès le plus important qui ait été réalisé récemment dans le domaine du diagnostic bactériologique de la tuberculose.

## II.

### La filtrabilité du b. tuberculeux.

Pour apprécier exactement les nombreuses discussions qu'on agite aujourd'hui autour de la question de la filtrabilité du virus tuberculeux il est indispensable d'avoir présent l'état actuel de nos connaissances sur la filtrabilité microbienne et sur les virus dits filtrables.

La question de la filtrabilité est envisagée, souvent, d'une façon scolastique et schématique tout à fait fausse, comme si elle relevait d'un rapport mécanique, c'est-à-dire de la différente grandeur entre les pores des filtres et les dimensions des virus.

Mais quiconque connaît, superficiellement même, la théorie et la technique de la filtration en microbiologie, sait que le phénomène est extrèmement complèxe et subordonné à une quantité de conditions qui peuvent en influencer considérablement le résultat.

---

[114] Wiener klin. Woch., 1924, 231.
[115] Wiener klin. Woch., 1924, 337.

En effet, toutes les bougies poreuses filtrantes, sont constituées par un système de pores et de méandres irréguliers, bien différents des trous, à dimensions définies, d'un tamis usuel.

Le système canaliculaire des bougies filtrantes présente, dans son ensemble, des dimensions supérieures à celles de la plupart des bactéries ordinaires, de sorte que ces dernières, surtout s'elles sont mobiles, parviennent souvent à traverser les parois des bougies, lorsqu'on souille ces dernières à l'intérieur avec les bactéries; on les plonge aseptiquement dans un liquide nutritif approprié et, enfin, on les laisse en repos. Esmarch en employant les bougies filtrantes du type Kitasato, a observé que le b. de la fièvre typhoïde traversait la bougie en 24 heures à 37° et en deux jours à la température ambiante; en de tels cas il serait difficile de décider si le passage se vérifie à cause de la mobilité bactérienne ou bien d'une multiplication ultérieure dans l'épaisseur de la paroi poreuse.

Toutefois il est certain que les bactéries plus mobiles sont à même de traverser les parois des bougies poreuses filtrantes plus rapidement que les bactéries moins mobiles ou immobiles.

Mais on sait bien que, si au lieu de laisser longtemps la bougie simplement plongée dans des liquides nutritifs appropriés, on la fait traverser par des liquides quelconques renfermant des bactéries, et l'on imprime au passage une certaine vitesse moyennant l'emploi d'une pression ou d'une aspiration, les bactéries (schizomycètes) ne sont pas capables en général de traverser la parois poreuse qui laisse passer seulement les liquides et les substances en solution.

L'adsorption, les forces d'attraction électrique, l'écrasement mécanique ou l'emprisonnement des bactéries dans des recoins ou dans les points les plus étroits de la bougie, ont été considérés, tour à tour, comme les causes de l'arrêt des bactéries, arrêt qui fut considéré jadis comme absolu.

Cependant, lorsque Loeffler et Frosch pour la fièvre aphteuse, Nocard et Roux pour la péripneumonie des bovidés, eurent démontré que les produits de filtration des matériaux pathologiques respectifs pouvaient garder leur propre virulence, on considéra comme acquise la notion fondamentale, suivant laquelle il existait des virus essentiellement différents des bactéries usuelles, caracterisées par leur propriété spéciale de traverser les bougies filtrantes.

Pour cela il a été institué le grand groupe des virus filtrables qui s'est enrichi de plus en plus, de presque tous ces agents morbides lesquels, à cause de leur invisibilité et incultivabilité, avaient rendu stériles les recherches basées sur les investigations bactériologiques ordinaires. Or, exception faite pour les protozoaires, la conception générale se

forma donc d'une division nette entre les agents morbides parfaitement visibles, pour la plupart cultivables et non filtrables (schizomycètes) et les virus filtrables que l'on peut difficilement cultiver et dont l'observation microscopique n'est point aisée.

Mais les études ultérieures qui ont fait constater des formes microscopiques toujours plus nombreuses dans les virus filtrables (corpuscules élémentaires, corpuscules primordiaux, inclusions), et les résultats parfois positifs de culture artificielle des virus filtrables eux-mêmes, ont rendu relative la conception différentielle en question. C'est surtout pour les virus qui présentent de grandes inclusions typiques (clamydozoaries ou clamydosomes) que, dans le but d'en expliquer la filtrabilité, plusieurs AA. ont admis la présence d'un cycle vital avec une forme extrèmement très menue, invisible et filtrable. Cette filtrabilité sembla donc rester le critérium essentiel pour une nette différentiation entre les deux groupes de virus; mais ensuite on vit que même en cela il s'agissait d'un caractère extrèmement relatif.

Avant tout, la filtrabilité ou la non filtrabilité d'un microbe est un phénomène sujet à nombre de conditions expérimentales: preparation du matériel (broyement, diluition, etc.), phase parasitaire (phase de la maladie, phase éventuelle de développement du virus, etc.), état physico-chimique du liquide dans lequel le virus est contenu (réaction, température, etc.), détails de technique (durée de la filtration, force de la pression ou de l'aspiration, compacité des bougies, etc.).

Une filtration prolongée pendant 24 heures avec une pression non proportionnée, risque de laisser passer des schizomycètes typiques, alors qu'une filtration pratiquée moyennant des produits non bien émulsionnés ou non convenablement dilués peut arrêter même les plus typiques virus filtrables.

La pratique nous a permis d'établir toutes les conditions qui contribuent à la formation de cet état spécial d'équilibre qui, habituellement, est apte à permettre le passage des virus dits filtrables et à empêcher celui des schizomycètes communs. Mais cet équilibre est tellement instable, que, pour donner de la valeur à une opération de filtration, il est absolument nécessaire d'ajouter au matériel à filtrer une bactérie de contrôle, de petites dimentions, facile à reconnaître (*B. prodigiosum*, b. du choléra des poulets) et qui doit être complètement arrêtée par le filtre, sans quoi la filtration doit être considérée comme manquée.

Vraiment, il faudrait que le contrôle fût pratiqué même dans un sens opposé; c'est-à-dire en ajoutant aussi au matériel à filtrer, un « quid » assurément et certainement filtrable, dont on devrait s'attendre le passage, sans quoi on ne peut pas être sûrs que certaines conditions de perméabilité aient été réalisées. Mais, d'ordinaire, on néglige ce second contrôle,

de sorte qu'en général dans les filtrations on atteint l'épreuve que la perméabilité n'est pas excessive, mais non l'épreuve que la perméabilité est suffisante; cette imperfection est, peut-être, la cause d'une quantité remarquable d'erreurs et de contradictions.

Or, tout en ayant atteint cet équilibre parfait des conditions qui permettent le passage des virus dits filtrants et empêchent celui des bactéries communes, on doit encore remarquer que les virus ne traversent pas les filtres en masse, mais, en général, ils les traversent seulement en très petites quantités. Des matériels extrèmement virulents, pathogènes pour les animaux, même en des quantités minimes (par ex. l'émulsion de substance nerveuse rabique) peuvent donner des filtrats ayant des propriétés pathogènes énormement affaiblies et même inconstantes. Comme on le sait, la filtrabilité de certains virus, comme par ex. ceux du vaccin, de la morve, de la peste des bovidés, a été niée par quelques AA. qui n'étaient pas parvenus à obtenir des filtrats actifs: et pour le même virus rabique c'est seulement la moitié des expériences qui a reussi probative. Dans certaines conditions il se vérifie même des faits absolument paradoxaux: par ex., en filtrant à travers les membranes de Zsigmondi des émulsions rabiques, additionnées de *B. prodigiosum* pour le contrôle, Pergher observa parfois le passage de quelques unités de *B. prodigiosum* dans des filtrats qui résultèrent, ensuite, libres de tout pouvoir pathogène.

Il est donc évident que le passage des virus dits filtrables ne peut s'effectuer que conditionnellement, en quantité généralement petite et, souvent, avec attenuation de la virulence.

D'ailleurs, le critérium différentiel de la filtrabilité s'est montré encore moins absolu à la suite de nombre de recherches expérimentales, par lesquelles plusieurs schizomycètes et microbes bien connus et systématiquement définis, donneraient lieu à des formes spéciales, capables de traverser les bougies ou les membranes filtrantes. Ces formes seraient, d'après quelques AA., l'expression de simples fragments microbiens doués encore d'un pouvoir prolifératif (*biogènes*), tandis que d'après d'autres AA. elles représenteraient une phase particulière de la vie microbienne, phase ignorée jusqu'ici. À l'appui de cette conception on cite le fait que les phases filtrables présentent habituellement des propriétés culturales et pathogènes différentes de celles qui sont propres à la phase visible.

Le groupe des spirochètes est certainement un groupe microbien systématiquement bien défini, dans lequel, mieux que dans tout autre, on a pu établir la présence d'éléments filtrables; nul doute peut subsister à cet égard et nous devons accueillir la filtrabilité de tous les genres de spirochètes pathogènes (*Spironema*, *Treponema*, *Leptospira*) comme une notion nettement acquise.

Mais, tout à tour, on a annoncé des résultats de filtrabilité même

pour de vraies bactéries, telles le vibrion cholérique, le b. typhique, les bacilles paratyphiques, le b. de la peste, les streptocoques, le b. tuberculeux, etc. Ces résultats ont été discutés; parfois ils ont été contredits et parfois même confirmés, et leur étude excite toujours un grand intérêt biologique.

Parmi tous ces résultats, celui qui a attiré le plus l'attention des microbiologistes, les poussant à des recherches innombrables et donnant lieu à de très vives discussions, est la filtrabilité du virus tuberculeux.

***

L'histoire de la filtrabilité du b. tuberculeux est généralement connue par un grand nombre de travaux. Il suffira donc de la résumer.

L'existance d'éléments filtrables dans le pus provenant d'abcès tuberculeux fut signalée et défendue, il y a 20 ans environ (1920), par M. Fontès [116] qui le premier, dans l'Institut Oswaldo Cruz à Rio de Janeiro, mit en relation ces éléments filtrables avec les granulations de Much et reussit à infecter quelques cobayes moyennant les filtrats obtenus à travers des bougies Berkefeld.

Les recherches de Fontès restèrent longtemps negligées, peut-être même parce qu'en 1912 Philibert [117] communiqua quelques études contraires aux conceptions du même Fontès; et ce ne fut qu'en 1923 que les recherches de Vaudremer [118] réveillèrent l'intérêt à l'égard de la filtrabilité du virus tuberculeux.

Les études de Vaudremer au sujet de cette filtrabilité se rattachent à la série de recherches que cet A. a accomplies à partir de 1921 jusqu'à 1925 [119] sur le polymorphisme du b. tuberculeux cultivé en bouillon de pomme de terre non glycériné. Comme on le sait, d'après Vaudremer, le b. tuberculeux qui a poussé en ce milieu, peut donner lieu au polymorphisme le plus vaste, générant ainsi toute une série de formes, à partir des formes coccoïdes jusqu'à celles ramifiées, perdant l'acido-résistance et la Gram-résistance, et parvenant à se développer même en 24 heures sur les milieux ordinaires, avec perte de sa virulence. Après repiquage de ces formes sur milieux glycérinés, le b. tuberculeux reprendrait toutes les caractéristiques qui lui sont propres.

Vaudremer affirma encore d'avoir obtenu, en filtrant sur Chamberland L3 des cultures de premier passage développées en profondité dans

---

[116] Mémoires de l'Inst. Oswaldo Cruz, t. II, 1910.
[117] Bull. Soc. d'étud. sc. sur la Tub., 2ª s., t. II, n. 1.
[118] C. R. Soc. Biol., vol. 89, 1923, pag. 80 e 1276.
[119] C. R. Soc. Biol., vol. 85, 1921, pag. 1055 e vol. 92, 1925, pag. 558.

l'infusion non glycérinée de pomme de terre, le passage du b. tuberculeux en forme invisible, mais cultivable sur milieu de Petroff.

Peu après, Vaudremer et Hauduroy ([120]) informèrent qu'en filtrant le b. tuberculeux émulsionné ou cultivé sur des milieux liquides glycérinés, ils avaient obtenu un filtrat qui, gardé à la température de 38°, donnait lieu à la formation d'un sédiment constitué par un lacis délicat de filaments anastomosés entre eux, mélangé à des granules et à des formes bacillaires et repiquable en série. Les formes granulaires étaient Gram-résistantes, tandis que les filaments ne l'étaient pas; ces AA. observèrent encore des formes qui résistaient à la décoloration à l'aide du chlorhydrate d'aniline, mais non à la décoloration par l'acide nitrique.

Ils ont donc conclus pour la filtrabilité du b. tuberculeux, mais on doit remarquer que les différentes phases qu'ils ont décrites et les détails des observations susmentionnées, n'ont reçu ensuite aucune confirmation.

En 1923 l'étude sur la filtrabilité du b. tuberculeux fut reprise par Valtis ([121]) dans le laboratoire de Calmette, en partant des crachats autolysés. À différence de Vaudremer et de Hauduroy, cet A. n'a jamais obtenu, des filtrats, la culture du b. tuberculeux; mais en inoculant les filtrats au cobaye, il a observé une hypertrophie ganglionnaire modique, surtout dans les ganglions trachéo-bronchiaux, avec la présence, dans ces derniers, d'un nombre très modéré de bacilles acido-résistants, et, plus rarement, il a observé quelques foyers pulmonaires. Des résultats analogues ont été obtenus même en d'autres expériences, en partant de matériaux pathogènes différents et de cultures tuberculeuses.

Après les premières recherches de Valtis, le problème de la filtrabilité du b. tuberculeux a été l'objet d'une considérable quantité d'études, non seulement dans le laboratoire de Calmette, mais aussi dans plusieurs autres laboratoires de presque tous les pays, et les contributions qui ont été publiées jusqu'ici sur ce sujet, atteignent un chiffre remarquable.

Les confirmations de la filtrabilité du b. tuberculeux pullulèrent bientôt dans la presse médicale, suscitant toutefois des voix discordantes qui soulevèrent des doutes ou nièrent sans plus le passage du b. tuberculeux à travers les bougies poreuse filtrantes.

C'est ainsi qu'une vive discussion a surgi, qui n'est pas encore fermée à l'heure actuelle et laisse face-à-face des conceptions nettement opposées.

Les nombre des AA. qui ont communiqué des recherches favorables

---

([120]) C. R. Soc. Biol., vol. 89, 1923, pag. 1276.
([121]) C. R. Soc. Biol., vol. 90, 1924, pag. 19 e Revue Tub., 1924, 5, 218.

à la conception de la filtrabilité du b. tuberculeux, soit du type humain soit du type bovin dépasse peut-être la centaine. La filtrabilité a été affirmée en utilisant les crachats, les exsudats purulents, les exsudats séeeux (liquides pleurétiques, préitoneaux, articulaires, épanchements par suite de pneumothorax, etc.) les matériaux pathologiques, caséeux et non caséeux, de plusieurs organes de l'homme et des aminaux, le liquide cérébro-spinal, les urines, les formes cutanées, le sang, le lait.

Après avoir rapidement passé en revue la littérature médicale et sans prétendre d'être complets dans une question que, pour la vastité et la quantité des recherches il est presque impossible de dominer, nous passons à citer — en laissant de côté les AA. précédemmant cités et M. Calmette qui est le défenseur le plus renommé de la conception de la filtrabilité du b. tuberculeux — les AA. qui ont constaté par voie expérimentale et ont admis la filtrabilité du b. tuberculeux:

Durand et Charchanski ([122]), Arloing et Dufourt ([123]), Besançon et Hauduroy ([124]), Vannucci ([125]), Vebed ([126]), Durand ([127]), Arloing, Dufourt et Malartre ([128]), Vasiilu et Iriminoiu ([129]), Durand, Oury et Benda ([130]) Casagrandi ([131]), Verdina ([132]), Schlossmann ([133]), Pla et Armengol ([134]), Nèlis ([135]), Lesbouyries et Verge ([136]), Hogounoff ([137]), Nasso ([138]), Nasta ([139]), Popper et Raileanu ([140]), Fabry ([141]), Zuccola ([142]), Rabinowisch-Kempner ([143]), Floyd et Herrick ([144]), Balbi ([145]), Cramarossa ([146]), De Partear-

---

([122]) C. R. Soc. Biol., vol. 93, 1925, pag. 499.
([123]) C. R. Soc. Biol., vol. 93 al 101, dal 1925 al 1929.
([124]) Rev. Tuberc., V, 1924, pag. 215.
([125]) Lo Sperimentale, vol. 78, 1924, 69.
([126]) C. R. Soc. Biol., vol. 94, 1926, 8.
([127]) Bull. Acad. de Méd., 1926, pag. 75.
([128]) C. R. Soc. Biol., vol. 94, 1926, pag. 46.
([129]) C. R. Soc. Biol., vol. 94, 1926, 1311.
([130]) C. R. Soc. Biol., vol. 95, 1926, pag. 1545.
([131]) Atti Soc. med.-chir. Padova, 1927, pag. 195; Riforma Medica, 1926, n. 46, pag. 1081.
([132]) Giorn. di Batt. e Imm., I, 1926, 208.
([133]) Bull. Union. Int. de Tub., t. III, n. 3, 1926 (cit. da *Galli*).
([134]) Citati da *Galli* (1926).
([135]) C. R. Soc. Biol., vol. 96, 1927, 21; vol. 97, 1927, 475.
([136]) C R. Acad. Sc., vol. 85, 1927, 729.
([137]) C. R. Soc. Biol., vol. 97, 1927, 349.
([138]) Riforma Medica, 1927, 1134.
([139]) C. R. Soc. Biol., 1927, 1°, pag. 591.
([140]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 1080 e vol. 97, 1927, 386.
([141]) Brux. Méd., 1927, pag. 596.
([142]) Riv. Pat. e Clin. Tub., 1927, 590 e 1928, 627 e 791.
([143]) Deutsche med. Woch., 1927, 1982.
([144]) Americ Rev. of Tub., 1927, 323.
([145]) Atti Soc. Med.-Chir. di Padova, 1927 (citato da *Galli*).
([146]) Rev. di Pat. e Clin. della Tub., 1927, f. 4°.

royo [147], Bocchini [148], Boncin et Jonesco [149], Valtis et Misiewics [150], Armand-Delille, Saenz et Bertrand [151], Durand, Benda, Kourilsky [152], Sergent, Durand et Benda [153], Rossi [154], Sweany [155], Tsechnowitzer e Karut [156], Van der Lee [157], Verge e Lesbouyries [158], Vascellari [159], Mellon, Ralph et Iost [160], Musso [161], Paisseau et Oumanski [162], Manganotti [163], Jemma [164], Kimla [165], Stolz [166], Rabinowitsch-Kempner[167] Ottolenghi [168], Gardenghi [169], Honly [170], De Bonis [171], Saenz [172], Priboiano et Lacomme [173], Loygne [174], Van Deinse [175], Urizio [176], Veber e Tonesco [177], Hübschmann e Ungar [178], Ravaut, Valtis, Nelis [179], Dogliotti et Biancalana [180], Felsenfeld [194], Lang L. et Clanberg [182], Magliavacca [183], Keller et Wethmar [184], Isabolinski et Gitowitsch [185], De Sanctis Monaldì [186], Ninni [187], Sanarelli et Alessandrini [188], Sep-

---

[147] Bol. tecn. de la Dir. gen. de San., 1927, 489.
[148] Rinascenza Medica, 1927, n. 19 (citato da *Galli*).
[149] C. R. Soc. Biol., vol. 98, 1928, pag. 464 e 466.
[150] C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 7.
[151] C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 1213.
[152] C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 30, 151 e 154.
[153] C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 28.
[154] C. R. Acad. Sc., vol. 186, 1928, 1867; C. R. Soc. Biol., vol. 101, 1929, 638.
[155] Americ. Rev. Tub'., vol. 17, 1928, 77.
[156] Centr. f. Bakt., I O., 107, 1928, 189.
[157] Inaug. Diss. Utrecht, 1928.
[158] Revue gén. Méd. Vet., 1928, 424.
[159] Policlinico, sez. med., 1928' 17; Riv. Patol. e Clin. della Tub., 1929, 649
[160] Amer. Rev. Tub., vol. 19, 483.
[161] Arch. di Biol., 1928, vol. 5.
[162] Soc. Méd. des Hôp., oct. 1928.
[163] Soc. Ital. Derm. e Sifil., aprile 1928.
[164] La Pediatria, giugno 1928 (citato da *Frola*).
[165] VI Conf. dell'Un. Intern. contro la Tuberc., Roma 1928.
[166] Cas. lék. ces., 1928, 1745.
[167] VI Conf. Un. Intern. contro la Tuberc., Roma 1928; Zeitschr. f. Tub., vol. 52, 1928, 18.
[168] VI Conf. Un. Intern. contro la Tuberc., Roma 1928.
[169] VI Conf. Un. Intern. contro la Tuberc., Roma 1928.
[170] VI Conf. Un. Intern. contro la Tuberc., Roma 1928.
[171] VI Conf. Un. Intern. contro la Tuberc., Roma 1928 (in Riforma Medica).
[172] C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 629.
[173] C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 402.
[174] C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 1186.
[175] C. R. Soc. Biol., vol. 101, 1929, 273.
[176] Riv. Patol. e Clin. Tub., 1929, 65 e 128.
[177] C. R. Soc. Biol., vol. 102, 1929, 113.
[178] Cas. lék. ces., 1929, pag. 437.
[179] C. R. Soc. Biol., giugno 1929.
[180] Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., marzo 1929.
[181] Med. Klin., 1929, pag. 1973.
[182] Zeitschr. Tuberk., vol. 53, 1929, 1.
[183] Boll. Soc. Med.-Chir. Pavia, febbraio 1929.
[184] Zeitschr. Tuberk., vol. 54, 1929, 22.
[185] Zeitschr. Immun. forsch., vol. 63, 1929, 510.
[186] Rev. Tuberc., vol. 11, 1930, pag. 568.
[187] C. R. Acad. Sc., vol. 190, 1930, 597; C. R. Soc. Biol., vol. 103, 1930, 891.
[188] C. R. Soc. Biol., vol. 104, 1930, 1241.

pilli et Ravasini ([189]), Babayantz Kevork ([190]), Lovisato ([191]), Manfredi et Parrino ([191*bis*]) et Rossetti ([191*ter*]).

Le type avaire aussi s'est démontré capable de passer à travers les filtres, ainsi qu'il ressort des recherches de De Potter ([192]) et de Arloing Dufourt ([193]); et de même le bacille de la fléole, suivant les expériences faites par Jelin ([194]).

Nous ajouterons encore que, d'après quelques AA., les filtrats peuvent déterminer une infection du cobaye non seulement lorsqu'ils sont inoculés par les voies parentérales, mais aussi quand ils sont administrés par la voie digestive, ce qui est confirmé par les recherches de Popper et Raileanu ([195]), et par d'autres encore plus récentes, à savoir celles de Arloing et Dufourt chez les cobayes nouveau-nés ([196]) et chez les oiseaux contaminés *per os* avec des filtrats de cultures du type aviaire ([197]).

Le pouvoir pathogène des filtrats de bacilles tuberculeux est, suivant certains chercheurs, tellement manifeste et constant, qu'il permet de pratiquer des expériences visant à établir la résistance des formes filtrantes vis-à-vis des agents chimiques et physiques de destruction. Nous rappelerons ici que Valtis ([198]), le premier, signala que les filtrats ne perdaient pas leur virulence par suite d'un vieillissement de 8 jours à la glacière. Ensuite, Arloing et Dufourt ([199]) ont constaté que les filtrats étaient virulents même au bout de 43 jours. Enfin, Nasta, Iovin et Blechmann ([200]), après avoir achevé une étude systématique sur la résistance des formes filtrables, ont affirmé qu'elles sont détruites par un chauffage á 60° prolongé pendant une heure et demi, et par le séjour à la glacière pendant 30 jours, aussi bien que par le sublimé corrosif en des concentrations variables de 0,2 à 1°/oo, par l'acide phénique à 1 et a 5 pour cent, et par les rayons ultraviolets. Suivant ces AA. les formes filtrables ne survivraient, dans l'organisme du cobaye, au de là de 30-40 jours.

Parmi les nombreuses recherches citées, quelques unes revêtent un caractère particulier, comme par ex. celles de Ninni, qui affirme la possibilité d'un enrichissement des filtrats par inoculation intraglandulaire

---

([189]) Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1930, f. VII.
([190]) Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1930, f. IX.
([191]) Giorn. di Batt. ed Imm., 1930, f. XI.
([191 *bis*]) Riv. Sanit. siciliana, V. 19, 1931, n° 4
([191*ter*]) Giorn. di Batt. e Immun., febbr. 1931.
([192]) C. R. Soc. Biol., vol. 96, 1927, pag. 138.
([193]) C. R. Soc. Biol., vol. 101, 1929, pag. 455.
([194]) Centr. Bakt., I, O., vol. 103, 1927, 325.
([195]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 1080.
([196]) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, pag. 1031.
([197]) C. R. Soc. Biol., vol. 101, 1929, pag. 455.
([198]) C. R. Soc. Biol., vol. 94, 1926, pag. 237.
([199]) C. R. Soc. Biol., vol. 96, 1927, pag. 463.
([200]) C. R. Soc. Biol., vol. 104, 1930, 723 e 1075.

directe; celles de Seppilli, qui a signalé la culture de l'ultravirus dans les tissus *in vitro*; celles de Manfredi et Perrino affirmant une filtrabilité plus grande des cultures sur milieux à la saponine.

La filtrabilité du b. tuberculeux est admise aussi par plusieurs chercheurs, sur la base d'épreuves indirectes et, particulièrement, des propriétés vaccinantes et allergiques des filtrats.

Paraf ([201]), le premier, et après lui Boquet, Nègre et Valtis ([202]), Arloing, Thévenot, Dufourt et Malartre ([203]), Arloing et Malartre ([204]), Valtis et Saenz ([205]) affirment concordement que l'inoculation des filtrats aux animaux à expérience détermine une certaine résistance par rapport à l'infection tuberculeuse. Si l'on considère qu'en général ces AA. sont favorables à l'opinion suivant laquelle l'immunité antituberculeuse est liée à la présence d'éléments vivants, on comprend la valeur qu'ils attribuent à ces épreuves. Valtis et Lacomme ([206]) ont aussi constaté que l'inoculation de filtrats aux animaux provoque la production d'anticorps et ils sont enclins à admettre que les anticorps existants dans les nouveau-nés issus de mères tuberculeuses, puissent être en rapport avec le passage transplacentaire de l'ultravirus.

Les recherches qui démontrent le pouvoir allergisant des filtrats sont encore plus nombreuses. Paraf ([207]), et après lui Arloing et Dufourt ([208]), Boquet, Nègre et Valtis ([209]), et encore Valtis ([210]) ont obtenu, d'une façon plus ou moins constante, la réaction tuberculinique dans les cobayes inoculés moyennant des filtrats tuberculeux. De l'autre côté, Herrold et Saelhof ([211]) avec les filtrats d'un b. tuberculeux avirulent, Sterling-Okuniewskó ([212]), Arloing et Dufourt, Fosserand et Charachon ([213]) avec les filtrats ordinaires, ont obtenu des réactions allergiques chez des organismes dans lesquels l'infection tuberculeuse évoluait; de telles réactions peuvent être obtenues, suivant Mantoux et Paraf ([214]) même si on se sert de filtrats stérilisés, ce qui ne doit pas étonner, car, dans ce cas, les filtrats sont employés au lieu de la tuberculine qui est — elle aussi — un produit stérilisé. Il faut citer encore les observations de Popper, Slobosiano

---

([201]) C. R. Soc. Biol., vol. 92, 1925, pag. 792.
([202]) C. R. Soc. Biol., vol. 94, 1926, pag. 235.
([203]) Bull. Acad. de Méd., vol. 98, 1927, pag. 208.
([204]) C. R. Soc. Biol., 1929, III, pag. 769.
([205]) C. R. Soc. Biol., 1929, vol. 101, pag. 353.
([206]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 447.
([207]) C. R. Soc. Biol., vol. 92, 1925, pag. 792.
([208]) C. R. Soc. Biol., vol. 95, 1926, pag. 1363.
([209]) C. R. Soc. Biol., vol. 96, 1926, pag. 235.
([210]) C. R. Soc. Biol., 1927, 2°, pag. 477.
([211]) Il. americ. Med. Ass., vol. 86, 1926, pag. 747.
([212]) C. R. Soc. Biol., vol. 98, 1928, pag. 71.
([213]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 1738.
([214]) C. R. Soc. Biol., vol. 95, 1926, pag. 1100.

et Raileanu [215]; ces AA., ayant recours à des filtrats stérilisés par la chaleur, ont obtenu des réactions allergiques chez les cobayes inoculés avec des filtrats actifs; or ils sont enclins à penser qu'un mécanisme analogue (sensibilisation due à des formes filtrables) doit être admis pour les réactions qu'on obtient, moyennant les filtrats chauffés, chez les enfants issus de mère tuberculeuses. Enfin, en ce qui concerne les réactions allergiques obtenues avec les filtrats, il faut tenir en grand compte les observations intéressantes faites par Debré, Lelong et Bonnet [216], Valtis, Sauer et De Sanctis-Monaldi [217] et par Van Beneden [218]: tous ces AA. ont obtenu un vrai phénomène de Koch, en inoculant des filtrats chez des cobayes en proie d'une infection tuberculeuse.

***

À côté d'un nombre si grand de chercheurs qui, pratiquant des expériences dans les conditions les plus différentes, ont confirmé la filtrabilité du virus tuberculeux, il y a des auteurs qui ont nié cette filtrabilité, et nous devons même reconnaître que ces voix discordantes sont nombreuses.

Il paraît que Montemartini [219] ait été le premier qui ait nié la filtrabilité du b. tuberculeux et, après lui, plusieurs dizaines d'AA. n'ont pu la confirmer, même en faisant leurs recherches sur presque tous les matériaux pathologiques et culturaux et dans des conditions d'expérience les plus variées.

Sans prétendre faire une étude bibliographique complète, nous allons citer les noms suivants, de ceux qui n'admettent pas une phase filtrable du bacille de la tuberculose:

Dessy [220], Lombardo [221], Petragnani [222], Marino e Riccardi [223], Peloso [224], Tagliabue [225], Chiarello [226], Vercesi [227], Cooper et Pe-

---

[215] C. R. Soc. Biol., vol. 96, 1927, pag. 1238-37 e vol. 98, 1928, pag. 1073.
[216] C. R. Soc. Biol., vol. 95, 1926, p. 1425.
[217] C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 1558.
[218] C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 1560.
[219] Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1925, 1.
[220] Boll. Ist. Sieroter. Mil., vol. V, 1926, pag. 41.
[221] Riv. Sanit. Sicil., 1926, 1236 (citato da *Galli*).
[222] Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1926, 4, 19.
[223] Ann. d'Igiene, 1927, 86.
[224] Tubercolosi, n. 7, 1927 (citato da *Galli*).
[225] Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1928, 217.
[226] Riforma Medica, 1928, pag. 54.
[227] Atti Congr. Ostetr., 1928 (citato da *Frola*).

troff (228), Di Natale (229), Ruys (230), Schiavo (231), Galli (232), Manzi (233), Petroff (234), Romeo (235), Aliquo Mazzei (236), Calvanico (237), Flarer (238), Gloyne, Roodhouse, Glover, Griffith e Stanley (239), Invernizzi e Schieppati (240), Morosowa (241), Barbante-Silva (242), Tarantelli (243), Bicciali (244), Nakayo (245), Ferranti (246), Sega et Bustolon (246*bis*).

En plus de ces AA. il y en a d'autres qui semblent constituer un groupe intermédiaire entre ceux qui admettent et ceux qui nient la filtrabilité du b. tuberculeux; il s'agit d'un certain nombre de chercheurs, qui, tout en ayant obtenu des résultats plus ou moins rares de bacilles acido-résistants, ou quelques résultats anatomo-pathologiques par suite de l'inoculation de filtrats, ou même en admettant une forme invisible du b. tuberculeux, ne se croient pas autorisés à conclure pour une phase filtrable; ou ils restent encore incertains dans leurs déductions, ou sont enclins à admettre que les faits observés puissent être mis en relation avec les imperfections inévitables des bougies filtrantes et avec la relativité de la filtration.

Parmi ces derniers Auteurs nous citerons les suivants:

Fessler (247), Canelli e Bosco (248), Rizzi e Morandi (249), Selter e Blumenberg (250), Lucksch (251), Lindemann et Bang-Dscheng-Li (252), Periti (253),

---

(228) Journ. Inf. Dis., 1928, sept., pag. 200.
(229) VII Congr. Ital. di Urol., Roma ottobre 1928 (citato da *Frola*).
(230) Neder. Tydschr. Genes., n. 72, 1928 (citato da *Frola*).
(231) Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1928, 433.
(232) Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1928, pag. 701.
(233) Rinasc. Medica, 1928, pag. 1093.
(234) VI Conf. Un. Intern. contro la Tub., Roma 1928.
(235) Gazz. med. Italo-Argent., febbraio 1928 (citato da *Frola*).
(236) R. Accad. Fisiocrit. Siena, gennaio 1928 (citato da *Frola*).
(237) Gazz. Intern. di Med. e Chir., agosto 1929 (citato da *Frola*).
(238) Giorn. Ital. Dermat. e Sifil., aprile 1929.
(239) Journ. of Path., 32, 775, 1929.
(240) Riv. di Patol. e Clin. Tuberc., 1929, 553.
(241) Centr. Bakt., I, O., vol. 113, 1929, 200.
(242) Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1929, pag. 469.
(243) Arch. Ital. di Derm., Sifil. e Venerol., 1930, f. 1.
(244) Boll. Soc. Med. Novarese, anno 7°, n. 7-8 (citato da *Frola*).
(245) Japan med. World, vol. 8, n. 5 (citato da *Frola*).
(246) Bull. Ist. sieroterapico milanese, v. 9, 1931, p. 683.
(246 *bis*) Riv. di Patologia e Clinica della Tubercolosi, 1930, anno IV, fasc. VI
(247) Centr. Bakt., I, O., vol. 98, 1926, pag. 148.
(248) Giorn. Batt. ed Immun., 1927.
(249) L'Italia Sanitaria, 1 nov. 1928.
(250) Centr. Bakt., I, O., vol. 110, pag. 167.
(251) VI Conf. Un. intern. contro la Tuberc., Roma 1928.
(252) Beitr. z. klin. Tuberk., vol. 70, 1928, 380.
(253) Policlinico, sez. med., 1928, 32.

Lange Bruno [254], Kirchner [255], Hababou-Sala [256], Bijl [257], Lucksch, Franz et Skutetzky [258], Loewenstein et Singer [259], Marchisotti [260].

Or, vis-à-vis d'une question si largement discutée et d'un nombre de contributions qui est vraiment sans précédents à propos de filtration de virus, on peut rester embarrassés.

Mais si nous pensons que dans toute contribution expérimentale ce qui a le plus de valeur sont les résultats positifs et non les résultats négatifs; que le nombre des AA. ayant affirmé la filtrabilité du virus tuberculeux est plus que le double, presque le triple du nombre des AA. qui l'ont niée; si nous considérons enfin les difficultés techniques inhérentes à la démonstration du tableau anatomo-pathologique spécial qui, généralement, est détérmlné par l'inoculation des filtrats, et par conséquent, la possibilité qu'un certain nombre d'échecs soit dû à un manque de précision au cours de l'expérience, il est évident que notre esprit tend à s'orienter vers l'hypothèse de la filtrabilité.

Néanmoins, avant d'émettre un jugement définitif il est bon d'examiner attentivement la question dans ses détails et d'analyser les objections principales qui ont été soulevées contre l'hypothèse de la filtrabilité.

Il faut reconnaître avant tout qu'un examen attentif d'un grand nombre de contributions, favorables ou contraires à la filtrabilité, n'arrive à nous révéler aucune différence entre les conditions des expériences qui ont abouti à des résultats si opposés. Ni le choix des matériaux, ni leur manipulation, ni la qualité des filtres utilisés, ni la voie d'administration des filtrats, ni l'observation successive des animaux inoculés présentent de différences auxquelles on puisse attribuer la diversité du résultat des expériences. Parfois on trouve même une ressemblance extraordinaire entre la technique employée par les AA. qui n'ont rien obtenu et celle qui fut adoptée par les AA. qui ont eu la plus grande constance de résultats positifs.

Quelques chercheurs et, en particulier, ceux qui appartiennent à l'école de Calmette, insistent sur le fait que les résultats positifs dus au virus filtrable, sont précoces et que la recherche tardive peut être une cause d'échec. Valtis, Nègre, Boquet, et Certonciny [261] ont observé des formes acido-résistantes, aprés l'inoculation des filtrats, déjà à la deuxième-

---

[254] VI Conf. Un. Intern. contro la Tuberc., Roma 1928.
[255] Beitr. z. klin. Tuberk., vol. 70, 1928, 375.
[256] C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 1215.
[257] Vers. d. Tub. Studie Commissie, 1928, 3.
[258] Med. klin., 1929, 1287.
[259] Wien. klin. Woch., 1929, 1341.
[260] Rev. sud-americ. de Endocrin. Immun. y. Quinot., vol. 13, 1930, 13.
[261] C. R. Soc. Biol., 1927, vol. 97, 1667.

sixième journée; Valtis [262] a eu l'occasion de faire des expériences, moyennant des filtrats qui tuaient le cobaye déjà au bout de la douzième journée après l'inoculation, en obtenant un résultat typique; De Sanctis-Monaldi[263] et Saenz [264], eux-aussi, affirment que le moment le plus opportun pour observer le résultat dû au virus filtrable se trouve entre la quatrième et la cinquième semaine après l'inoculation des filtrats; Saenz affirme que la forme filtrante peut être détruite par l'organisme des cobayes inoculés, au bout de 2-3 mois, tandis que, suivant Nasta, Iovin et Blechmann [265] cette période serait de 30-40 jours seulement.

Mais de l'autre côté nous avons plusieurs AA. qui ont observé des résultats positifs typiques après un délai remarquable à partir de l'inoculation des filtrats; et il y a même quelqu'un qui croit d'entrevoir la cause de l'échec de plusieurs AA., dans l'examen trop précoce des animaux inoculés.

Comme il est actuellement impossible d'attribuer la différence des résultats obtenus par les divers groupes d'AA. à des diversités dans la technique employée, il faut examiner s'il est possible d'imputer à une erreur collective le nombre considérable des contributions qui plaident en faveur de la filtrabilité.

Parmi les différentes possibilités d'erreur qui ont été avancées, il y en a une qui est digne d'un examen particulier; il s'agit de celle qui admet la présence, dans les ganglions lymphatiques des cobayes neufs et normaux, d'éléments acido-résistants, aptes à simuler de vrais bacilles tuberculeux et interprétés assez différemment par les divers observateurs (éléments ou granulations simili bacillaires, vrais bacilles pseudo-tuberculeux, etc).

Dans ce sens parlent les résultats obtenus par Burle de Figueiredo [266] par Cooper et Petroff [267], Thomson et Frobisher [268], par Leusden [269], Brongennère et Muchfussi, et même par Rabinowitch-Kempner [270] qui admet pourtant la filtrabilité du b. tuberculeux.

Le tableau ganglionnaire typique de l'inoculation, dû aux filtrats, peut être constaté, d'aprés Hababou-Sala [271], même chez des cobayes

---

(262) C. R. Soc. Biol., 1926, vol. 94, 237.
(263) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 627.
(264) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 629.
(265) C. R. Soc. Biol., vol. 104, 1930, 723.
(266) C. R. Soc. Brés. de Biol., 10 nov. e 14 déc. 1926.
(267) Journ. Inf. Des., 1928, pag. 200.
(268) Americ. Rev. Tub., 1928, pag. 822.
(269) Zeitsch. Tub., V. 55, 1930, p. 437.
(270) Ann. Méd., vol. 25, 1929, pag. 287.
(271) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 1217.

inoculés avec la tuberculine. Mais Saenz et Van-Deinse ([272]) ont pu démontrer que les formes acido-résistantes décelables dans les ganglions, par suite de l'inoculation de tuberculine, ne sont autre chose que les bacilles tuberculeux morts existant dans la tuberculine elle-même. En filtrant la tuberculine sur bougie, de façon à retenir ces corps bacillaires, on n'obtient plus ce résultat.

En réalité on ne peut pas nier la possibilité que dans quelque cobaye normal on puisse avoir le résultat de quelques formes acido-résistantes qui proviennent des germes du type *Thimothee bacillus* qu'on rencontre facilment dans les fourrages.

Boquet ([273]), Pampana ([274]) Boquet et Saenz ([275]) ont démontré, en effet, le passage, dans l'organisme, du bacille de la fléole consécutivement à l'administration de cultures par la voie orale.

En vérité, dans les conditions habituelles d'élevage, ce fait ne doit être pas fréquent et il n'est pas à prendre en considération, du moins pour ce qui ressort des recherches très nombreuses pratiquées dans les laboratoires de Calmette et, surtout, si l'on considère que Saenz ([276]) et de Sanctis-Monaldi ([277]), en examinant respectivement 200 cobayes et presque 100 cobayes qui n'avaient pas été inoculés avec des produits tuberculeux, n'ont obtenu aucun résultat positif de formes acido-résistantes.

Et, si, ainsi que Petroff et d'autres AA. américains le pensent, plus d'un tiers des cobayes normaux hébergent dans leurs ganglions lymphatiques des formes acido-résistantes, comment expliquerons-nous les résultats absolument négatifs décrits par plusieurs dizaines d'Auteurs niant la filtrabilité du b. tuberculeux?

Mais en laissant de côté ces argumentations d'ordre négatif, il y a un fait d'ordre positif, qui enlève toute valeur à la contradiction dont nous venons de parler. Nous voulons nous rapporter à la démonstration qui desormais a été donnée par plusieurs AA., suivant laquelle les formes acido-résistantes observées dans les ganglions ou dans d'autres organes de cobayes inoculés moyennant des filtrats, sont réellement des formes tuberculeuses et non pas des saprophytes communs.

En effet, en faisant des passages en série avec des organes de cobayes inoculés moyennant des filtrats, plusieurs AA. ont pu obtenir, après un nombre de passages variable de 2 à 7, le développement de vraies tuberculoses avec des foyers caséeux typiques. Nous citerons

([272]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 1940.
([273]) C. R. Soc. Biol., vol. 96, 1927, pag. 176.
([274]) Ann. d'Igiene, 1929, vol. 39.
([275]) C. R. Soc. Biol., vol. 105, 1930, pag. 260.
([276]) VI Conf. dell'Un. Intern. contro la Tuberc., Roma 1928.
([277]) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, pag. 627.

parmi ces chercheurs, Fabry [278], Arloing et Dufourt [279], Sergent, Durand et Benda [280], Calmette, Couvelaire, Valtsi, Lacomme et Saenz [281], Felsenfeld [282], Saenz [283], Van Deinse [284], De Sanctis-Monaldi [285], et, enfin, Sanarelli et Alessandrini [286] qui ont fait des recherches à l'aide de filtrats obtenus à travers des sacs de collodion.

Il est bien vrai que, parfois, on a avancé l'hypothèse que les résultats positifs attribués au virus filtrant puissent être, au contraire, rapportés à de véritables formes de tuberculose spontanée du cobaye. Mais, tout en admettant que la tuberculose spontanée du cobaye existe réellement, les recherches de Remlinger [287], et de Rabinowitsch-Kempner [288] (qui rapporte aussi une ample bibliographie sur le sujet), nous ont démontré qu'elle est tout à fait exceptionnelle, et qu'elle ne pourrait pas expliquer les résultats positifs si nombreux, que nous avons mentionnés plus haut.

Maintenant, après avoir examiné un nombre si élevé de travaux nous tâcherons de parvenir à une synthèse.

Il paraît désormais indiscutable, après une centaine environ de confirmations, que les matériaux et les cultures tuberculeuses laissent passer à travers les filtres les plus différents employés dans la technique microbiologique, des formes particulières aptes à engendrer une infection dans le cobaye. Malgré les résultats opposés, qui ont pourtant une certaine valeur et qui doivent inciter à rechercher les causes d'une telle divergence il nous semble impossible d'admettre que la constatation d'une forme filtrable particulière du b. tuberculeux puisse être le simple résultat d'une énorme illusion collective.

En donnant un regard rétrospectif à l'histoire de la microbiologie, nous pourrons rencontrer des exemples de grandes erreurs universellement acceptées; mais celles-ci se rapportent toujours au côté théorique des questions et à leur interprétation qui est faite suivant l'orientation intellectuelle d'un moment déterminé. Mais, si, par contre, nous nous rapportons aux faits et à leur exacte observation — ainsi qu'il s'agit dans le cas présent, où tout se borne à déterminer objectivement si des

---

(278) Brux. Méd., 1927, pag. 596 (citato da *Galli*).
(279) C. R. Soc. Biol., vol. 98, 1928, pag. 969.
(280) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, pag. 28.
(281) Bull. Acad. Méd., vol. 102, 1929, pag. 93.
(282) Med. Klin., 1929, pag. 1973.
(283) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, pag. 629.
(284) C. R. Soc. Biol., vol. 101, 1929, pag. 273.
(285) Rev. Tub., vol. 11, 1930, pag. 568.
(286) Ann. d'Igiene, vol. 41, 1931, p. 73.
(287) C. R. Soc. Biol., vol. 88, 89 e 90, pag. 659, 298 e 1222; Ann. Inst. Pasteur 1923, pag. 686.
(288) Ann. Méd., vol. 25, 1929, pag. 287.

cobayes inoculés moyennant un matériel donné, présentent ou non des phénomènes déterminés — alors il faut avouer qu'on ne connaît pas vraiment des illusions collectives frappantes. Par conséquent, même indépendamment de bons arguments critiques qu'on peut apporter en faveur de la filtrabilité du b. tuberculeux, nous sommes d'avis que le seul fait d'un nombre si exceptionnel de confirmations, doit avoir une valeur de premier ordre.

Je dois personnellement déclarer qu'une opinion si définitive à propos du passage du b. tuberculeux à travers les filtres, n'a pas été acceptée par moi seulement grâce à un bilan numérique ou critique des travaux très nombreux qui ont paru sur ce sujet. Animé tout d'abord par un certain scepticisme, j'ai été ensuite surpris par le nombre croissant de confirmations de la filtrabilité et j'ai eu enfin l'opportunité de me former à cet égard une opinion personnelle, car j'ai pu suivre les intéressantes recherches expérimentales pratiquées par Sanarelli et Alessandrini moyennant les sacs de collodion.

Aujourd'hui je suis convaincu que le b. tuberculeux, en ce qui concerne sa capacité de traverser les parois filtrantes, ne peut pas être placé au même niveau de plusieurs autres schizomycètes.

Et comme, dès le commencement de ce chapitre, j'ai insisté sur la relativité de la filtration, nous pouvons maintenant affirmer que, sur la base des recherches très nombreuses susmentionnées, *le b. tuberculeux se montre comme un microbe relativement bien filtrable en comparaison de beaucoup des schizomycètes usuels.*

À vrai dire, cétte formule pourrait être adoptée aussi pour plusieurs virus dits filtrables.

***

Un problème va s'imposer aujourd'hui aux investigations des savants qui s'occupent de la filtrabilité du b. tuberculeux.

Qu'elle est la forme sous laquelle ce virus traverse les filtres?

On a avancé trois hypothèses, et précisément:

1) A cause de l'imperfection de nos filtres, des bacilles tuberculeux acido-résistants, très rares, mais typiques, pourraient les traverser.

2) Des formes granulaires du b. tuberculeux pourraient passer (Fontès).

3) L'élément traversant les filtres serait une phase invisible, et inconnue jusqu'ici, du b. tuberculeux (ultravirus de Calmette).

La première de ces trois hypothèses semble être très peu probable car si le b. tuberculeux passait sous sa forme typique, les filtrats devraient être généralement cultivables et ils devraient déterminer — du moins

lorsqu'ils proviennent de matériel ou de cultures très virulentes — une tuberculose typique; on sait, en effet, qu'un petit nombre d'unités bacillaires virulentes suffisent pour le développement d'une infection commune dans le cobaye; d'après Warnoscher et Stoeckin [289] et aussi d'après Levinthal [290] il suffirait même une seule unité bacillaire.

Au contraire, les faits démontrent un comportement qui, en général, est tout à fait différent.

Envisageons, avant tout, la question au point de vue de la cultivabilité ou non des filtrats.

Il est bien vrai que Vaudremer [291], Hauduroy et Vaudremer [292], et puis encore Valtis et Saenz [293] ont soutenu la cultivabilité des filtrats sous des formes s'éloignant du type ordinaire; il est encore vrai que Durand [294], Togounoff [295] et Kirchner [296] ont exceptionnellement obtenu des filtrats quelques cultures positives; mais les recherches des premiers AA. n'ont pas été confirmées et les résultats des autres sont tellement rares qu'on ne peut les expliquer qu'avec les imperfections de technique inévitables. Les AA. qui soutiennent la filtrabilité du b. tuberculeux n'ont jamais pu obtenir, des filtrats, aucune culture et ce caractère nouveau de la non cultivabilité est sans doute un argument important, qui laisse entrevoir une différence profonde et fondamentale entre la forme acido-résistante et la forme filtrable du b. tuberculeux.

L'autre argument qu'on porte contre l'hypothèse suivant laquelle la virulence des filtrats serait en rapport avec le passage de rares formes bacillaires typiques est constitué — ainsi qu'on l'a dit plus haut — par le fait qu'en général, les filtrats déterminent un tableau infectieux et anatomique tout à fait particulier.

Typiquement, l'inoculation sous-cutanée de filtrats ne produit aucune ulcération locale au niveau du point d'inoculation et, d'habitude, elle ne produit pas même la tuméfaction des ganglions tributaires du territoire cutané inoculé. L'altération la plus constante, décelée macroscopiequement, chez les cobayes infectés moyennant des filtrats, est représentée par la tumefaction des ganglions trachéo-bronchiaux. Plus rarement on remarque des tuméfactions d'autres ganglions lymphatiques et, parfois, la formation de rares nodules ou bien des infiltrations tuberculeuses localisées dans quelques organes (dans le poumon surtout). L'investigation

---

[289] Centr. Bakt., I, O., vol. 104.
[290] Zeitschr. Hyg., vol. 107, 1927, 387.
[291] loc. cit.
[292] loc. cit.
[293] C. R. Soc. Biol., vol. 103, 1930, pag. 134.
[294] C. R. Soc. Biol., vol. 91, 1924, pag. 11.
[295] C. R. Soc. Biol., vol. 97, 1927, 349 e 547.
[296] Beitr. klin. Tub., vol. 70, 1928, 375.

soignée, faite au microscope, des ganglions tuméfiés ou des organes atteints, amène généralement à la constatation de la présence de bacilles acido-resistants typiques, réunis en groupes ou isolés, mais, en tous cas, tellement rares qu'ils exigent parfois des heures d'observation pour qu'on puisse déceler leur présence.

Suivant Martinolli (297) on peut, parfois, obtenir même des lésions du type lympho-granulomateux, et il y a des AA. qui dans l'ultravirus tuberculeux ont voulu voir la cause étiologique du lymphogranulome malin.

Toutefois, pour être objectifs, on doit reconnaître que, non rarement, les filtrats peuvent déterminer un tableau typique de tuberculose caséeuse et même des lésions locales au point d'inoculation. Nous nous rapportons, à ce propos, aux travaux de Vannucci (298), de Arloing, Dufourt et Malartre (299), de Durand et ses collaborateurs (300), de Verdina (301), de Boncin et Ionesco (302), de Mellon et Iost (303), de Vascellari (304) etc.; ces AA. ont démontré, qu'il n'existe pas un tableau unique dû aux filtrats.

Et, en effet, dès 1926, Arloing et Dufourt (305) ont admis que les filtrats peuvent engendrer trois tableaux différents: la tuberculose nodulo-caséeuse; la tuberculose lymphatique (dont le tableau typique a été décrit plus haut); une infection labile, qui n'est décelable que fugitivement, moyennant des réactions tuberculiniques. En outre, les mêmes AA. ont affirmé que l'inoculation des filtrats aux cobayes nouveau-nés peut donner un tableau cachéctique et hypotrophique.

Vis-à-vis de ces faits, il y a eu des AA. qui ont tâché d'expliquer la gravité plus ou moins grande et les différents tableaux consécutifs à l'inoculation des filtrats, en avançant l'hypothèse d'une différente quantité de virus introduit, en admettant que le tableau lympho-glandulaire simple ne serait que la conséquence d'une introduction insuffisante de virus.

Tout en attribuant une certaine valeur à cette argumentation et en reconnaissant que les inoculations pauci-bacillaires de souches peu virulentes ne peuvent produire la lésion locale au niveau du point d'infection et peuvent déterminer, par contre, des infections ganglionnaires à distance,

---

(297) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 1045.
(298) Lo Sperimentale, vol. 78, 1924, 69.
(299) C. R. Soc. Biol., 1925, 1°, 165.
(300) C. R. Soc. Biol., 1925 (18 luglio), pag. 499 e vol. 99, 1928, pag. 151; Bull. Acad. de Méd., 1926, pag. 75.
(301) Giorn. Batt. ed Imm., I, 1926, 208.
(302) C. R. Soc. Biol., vol. 98, 1928, pag. 464.
(303) Americ. Rev. Tub., vol. 19, 1929, 483.
(304) Riv. Patol. e Clin. Tub., 1929, 649.
(305) Bull. Acad. Méd., 30 nov. 1926, pag. 301; C. R. Soc. Biol., 1926, 15 nov. (Lyon) e vol. 95, pag. 1414.

il reste toujours peu justifié le fait que, même des filtrats de souches très virulentes (bovine *Vallée*), peuvent déterminer, d'habitude, le tableau particulier qui fut signalé par l'école de Calmette.

Nous répétons donc que l'hypothèse de la filtration d'éléments bacillaires très rares nous semble presque inadmissible et il existe aussi d'autres arguments qui lui sont contraires et que nous allons discuter à propos de la forme granulaire.

La seconde hypothèse, c'est-à-dire celle qui admet le passage du virus sous une forme granulaire, a une vraisemblance plus grande en comparaison de la précédente et elle a rencontré plus de faveur. Cette hypothèse repose sur les connaissances que nous avons à propos du polymorphisme du b. tuberculeux.

Comme on le sait, la mycobactérie de la tuberculose, qui, en des conditions normales, se présente sous la forme d'un mince bâtonnet acido-résistant, a sans doute une tendance remarquable au polymorphisme. Si l'on se rapporte aux recherches, pas trop acceptées ou confirmées, de Ferran, de Karwackó, de Vaudremer, de Sanfelice, etc., le polymorphisme du b. tuberculeux serait, pour ainsi dire, illimité, avec les aspect les plus variés et les plus opposés, jusqu'à devenir même un véritable actynomycète ou un coccus ou un germe semblable au coli qui peut être cultivé en 24 h. sur les milieux nutritifs les plus usuels.

Mais, en laissant de côté ces métamorphoses remarquables, qu'on ne peut pas accepter sans des confirmations que l'on attend encore, nous sommes d'avis que tout le monde puisse s'accorder pour admettre un polymorphisme du b. tuberculeux sous les trois formes suivantes: la forme ramifiée (en guise d'actinomycète); la forme à batônnet, non plus acido-résistante, et la forme granulaire.

Les formes granulaires du b. tuberculeux, déjà observées par Schroen, Mircoli, Malassez et Vignal, Strauss, Semmer, Ernest, Spengler, etc., ont étés l'objet d'études spéciales de la part de Much (1908); cet A. les considéra comme une phase particulière du b. tuberculeux, dérivée de la forme acido-résistante et capable de se transformer à nouveau dans cette dernière.

Cela est aussi l'opinion de Kahn et Torrey [306]; ils prétendent d'avoir suivi parfaitement, en partant d'isolements monocellulaires, le cycle du b. tuberculeux. De la forme bacillaire typique et acido-résistante dériverait, après sa fragmentation en des éléments coccoïdes acido-résistants, la suddivision en des granules extrèmement petits, non plus acido-résistants. De ces derniers proviendraient les formes bacillaires

---

[306] Americ. Rev. Tub., 1928, pag. 815 e 1929, pag. 150.

nouvelles, acido-résistantes, très minces tout d'abord, et ayant ensuite les caractères du b. tuberculeux typique.

Ces résultats apparaissent tellement extraordinaires (pour tous ceux qui connaissent les difficultés inhérentes à cette technique appliquée au b. tuberculeux) qu'elles demandent d'être confirmées.

Suivant une autre opinion très répandue, les granulations représenteraient au contraire de simples produits de la disgrégation du b. tuberculeux, de vrais fragments bactériens (« Tuberkelsplittern » de Spengler), incapables de se multiplier et ne pouvant pas être considérés comme une phase cyclique. Certains AA. leur ont nié, parfois, toute activité vitale et pathogène, tandis que d'autres arrivent même à admettre que ces granulations soient encore vitales et aptes à constituer des éléments typiques dans des conditions appropriées (« biogènes » de Tsechnowitser).

Fontès qui affirma, le premier, la filtrabilité du b. tuberculeux, n'a pas hésité à la mettre en relation avec les formes granulaires du bacille, formes qui représenteraient le seul élément capable de traverser les filtres.

Plusieurs chercheurs qui ont admis la filtrabilité du b. tuberculeux, sont enclins à partager cette opinion; et le passage exceptionnel de granulations à travers les filtres est admis même par des AA. comme Selter et Blumenberg [307] qui, dans leurs conclusions, se montrent presque contraires à accepter la filtrabilité du b. tuberculeux.

Contre l'hypothèse de la filtration du b. tuberculeux sous une forme granulaire, on ne peut soulever sérieusement les objections que nous avons exposées à propos de la premiére hypothèse (passage de rares formes bacillaires typiques), car en s'agissant d'éléments qui représentent une phase particulière ou une phase dégénérative du b. tuberculeux, on ne peut pas être étonnés par le fait qu'ils puissent avoir acquis des propriétés différentes (incultivabilité, pouvoir pathogène *sui generis*).

Par contre on a objecté que si le b. tuberculeux filtrait sous une forme granulaire, on devrait obtenir, moyennant la centrifugation, un résultat visible, tandis que, jusqu'à présent, on n'a jamais pu constater la présence de granulations dans les filtrats. Mais qui s'occupe d'examens microscopiques connaît parfaitement la difficulté qu'on rencontre lorsqu'on veut observer des microbes distribués dans les liquides en quantité minime et d'autant plus, s'il s'agit de granulations microbiennes; la démonstration microscopique vient souvent à manquer, alors que les épreuves biologiques ou culturales résultent positives.

Par conséquent, ni l'invisibilité des granules, ni l'incultivabilité des filtrats, ni leur manière spéciale de se montrer virulents, sont des conditions que l'on puisse opposer d'une façon irréfutable à l'hypothèse de

[307] loc. cit.

Fontès, hypothèse que, jusqu'aujourd'hui résistait très bien contre celle de Calmette, laquelle admet la présence d'un phase particulière invisible du virus tuberculeux, jadis inconnue et désignée par Calmette avec le nom de *ultravirus tuberculeux.*

Mais dans ces derniers temps, quelques recherches de Sanarelli et Alessandrini (308) semblent orienter décidément nos conceptions envers l'ypothèse de l'ultravirus de Calmette.

Ces auteurs ont réussi à filtrer le b. tuberculeux à travers les sacs de collodion de Sanarelli. Le fait de la filtrabilité à travers des membranes de collodion, n'a, en soi-même, rien d'extraordinaire, parce qu'il y a des membranes (par ex. les membr. de Szigmondy) qui présentent la constitution poreuse d'un vrai tamis, avec des pores qu'on peut mesurer en $\mu$ et tels à laisser passer sans difficulté plusieurs éléments. Mais ce qui est particulièrement intéressant dans les recherches de Sanarelli et Alessandrini c'est le fait qu'ils ont employé des sacs ayant des parois tellement épaisses qu'elles constituent de véritables ultrafiltres, aptes à retenir les toxines et plusieurs autres éléments colloïdaux complexes. Des sacs de collodion remplis avec de la toxine tétanique ou diphtérique, et ensuite hermétiquement scellés, n'ont produit aucun phénomène d'intoxication pendant leur séjour prolongé dans le péritoine des animaux. Les sérums provenant de sujets syphilitiques, filtrés à travers ces sacs perdent la propriété de donner la réaction de Wassermann (Trenti).

Or, renfermant dans ces sacs des cultures ou des produits tuberculeux, Sanarelli et Alessandrini ont pu vérifier maintes fois le passage *in vitro* et *in vivo* de formes filtrantes qui donnent lieu au tableau lymphoglandulaire caractéristique des filtrats et qui, après trois passages dans le cobaye, peuvent déterminer une tuberculose caséeuse classique.

Le travail tout à fait récent de Manfredi et Parrino (mentionné plus haut) arrive à des conclusions à peu près identiques.

De pareilles observations excluent évidemment le passage de toute forme morphologiquement constituée, bacillaire ou granulaire, et elles nous orientent plutôt vers l'ultravirus de Calmette.

Nous rappelerons ici que Casagrandi admet, pour le b. tuberculeux, la théorie mycoplastique d'Eriksson et propose de nommer « *mycoplasmes* » certains ultravirus et, spécialement, le virus tuberculeux.

Nous ne pouvons pas terminer cette partie de notre étude, sans faire une considération biologique d'ordre général. Si, comme les recherches mentionnées plus haut et d'autres encore se rapportant à divers virus filtrables et notamment au bactériophage, tendent à le démontrer

---

(308) loc. cit.

— on établira définitivement que certaines phases microbiennes peuvent traverser des parois tellement épaisses à retenir des toxines et des antigènes, nos connaissances actuelles par rapport à la constitution des êtres vivants seront bouleversées; il sera alors nécessaire de faire une révision profonde de la biochimique vitale, àfin d'expliquer comment la vie même puisse s'accorder avec des formes ayant des dimensions plus petites que celles qui sont assignées aux mycelles de certaines substances colloïdales.

***

Une dernière question très débattue et extrèmement intéressante en ce qui concerne la filtrabilité du virus tuberculeux, c'est la possibilité du passage transplacentaire des formes filtrables, en des conditions qui ne permettent pas, d'habitude, le passage des formes bacillaires typiques.

Le passage transplacentaire du virus tuberculeux est un problème qui se rattache à des questions épidémiologiques et cliniques fondamentales.

Au point de vue épidémiologique on a toujours cherché à vérifier des rapports entre les parents tuberculeux et leurs enfants. La doctrine de l'hérédo-prédisposition des enfants issus de parents tuberculeux n'étant plus admise, la plupart des cas de tuberculose des enfants sont attribués à l'infection post-natale à cause de la vie en commune. Mais ce qui rencontre aujourd'hui un consentement de plus en plus large c'est la doctrine de l'hérédo-immunité, formulée organiquement, la première fois, par Sanarelli. Cet Auteur l'a développée à l'aide d'une grande quantité de données statistiques, qui donnent de la valeur aux observations expérimentales de Maffucci et d'autres AA. ([309]).

Au point de vue clinique on a observé, chez les enfants issus de mères tuberculeuses, des dystrophies et même la mort par suite de l'atrophie et de la cachexie qui apparaissent pendant les premiers mois successifs à la naissance, quoique ces nouvea-nés soient soustraits à l'influence néfaste du milieu familial.

Pendant le passé, ces faits n'ont rencontré aucun appui dans les observations bactériologiques, sérologiques ou anatomo-pathologiques, parce que la constatation de la transmission héréditaire du b. tuberculeux et de la tuberculose constitue un fait très rare.

Aujourd'hui la transmission de la tuberculose conceptionelle est niée et, pour ce qui en est à la transmission placentaire elle est admise

---

([309]) *Sanarelli,* « Il fattore ereditario nella tubercolosi ». Editrice Romana Medica, 1930.

seulement en des cas exceptionnels. Cette transmission placentaire peut s'effectuer soit par suite d'une localisation tuberculeuse placentaire, soit à travers de petites solutions de continuité qui peuvent se vérifier dans le placenta au cours de la grossesse ou comme conséquence des contractions utérines pendant l'accouchement, soit enfin à cause du transport du b. tuberculeux effectué par les leucocytes.

Dés l'apparition de la doctrine de la filtrabilité, on a repris en examen la question du passage du virus tuberculeux de la mère au foetus, à travers le placenta et, dans le but de trouver une explication à des faits qui sont obscurs au point de vue épidémiologique et cliniquement mal interprétés, on a entrepris l'étude de la possibilité éventuelle du passage de la forme filtrante en des conditions qui ne permettent pas le passage de la forme bacillaire acido-résistante.

Calmette, Valtis, Nègre et Boquet ([310]) ont affirmé les premiers la possibilité du passage de l'ultravirus tuberculeux de la mère au foetus. Ayant inoculé des filtrats chez des cobayes pleines, ils ont constaté, chez les nouveau-nés, des ganglions hypertrophiques et la présence, dans ces derniers, de bacilles ayant l'aspect tuberculeux classique.

Ensuite, le passage trans-placentaire de la forme filtrable a été affirmé par plusieurs AA., parmi lesquels nous allons citer les suivants:

Arloing et Dufout ([311]), Calmette, Valtis, Lacomme ([312]), Couvelaire ([313]), Rabinowitch-Kempner ([314]), Nasso ([315]), Sergent, Durand e Benda ([316]), Vascellari ([317]), Zuccola ([318]), De Bonis ([319]), Musso ([320]), Mockeberg, Sergent, Durand et Benda ([321]), Calmette, Couvelaire, Valtis, Lacomme e Saenz ([322]), Magliavacca ([323]), Valtis et Saenz ([324]) Van Beneden ([325]), Urizio ([326]), Marrinolli ([327]), Nasta et Blechmann ([328]), Valtis ([329]).

---

([310]) C. R. Acad. Sc., 19 oct. 1925, pag. 491.
([311]) C. R. Acad. Sc., vol. 181, 1925, pag. 826; Bull. Acad. Méd., vol. 95, 1926, pag. 163, 318, 416; Arch. Méd. et Pharm. Mil., vol. 87, 1927, pag. 486.
([312]) Ann. Inst. Past., vol. 42, 1928, pag. 1149; Presse Méd., 10 nov. 1926, p. 1409.
([313]) Bull. Acad. de Méd., 23 nov. 1926.
([314]) Deutsche med. Woch., 1927, 1982.
([315]) Riforma Medica, 1927, 1134.
([316]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 28.
([317]) loc. cit.
([318]) Riv. Patol. e Clin. Tub., 1928, 627 e 791.
([319]) VI Conf. Un. Intern. contro la Tub., Roma 1928 (in Riforma Medica).
([320]) Archivi di Biol., 1928, vol. 5.
([321]) Progrès Méd., giugno 1928.
([322]) Bull. Acad. de Méd., vol. 102, 1929, pag. 93.
([323]) Boll. Soc. Med.-Chir. Pavia, febbraio 1929 (citato da *Frola*).
([324]) C. R. Soc. Biol., 1929, 3°, 386.
([325]) Citato da *Valtis* e *Saeur*.
([326]) Riv. Patol. e Clin. Tub., 1929, 65 e 128.
([327]) Riv. Ital. di Ginecologia, vol. 8.
([328]) C. R. Soc. Biol., vol. 103, 1930, 1367.
([329]) C. R. Soc. Biol., vol. 103, 1930, 1096.

D'autres savants (qui, en général, sont naturellement ceux-mêmes qui ont nié la filtrabilité du virus tuberculeux) s'opposent par contre à l'hypothèse de Calmette et de son Ecole.

Ils n'apportent pas seulement des expériences négatives à cet égard, mais ils tâchent aussi de combattre l'hypothèse d'une plus facile transmission par voie placentaire, d'une forme filtrable, en apportant des argumentations diverses. Ils font ressortir surtout le fait par lequel le filtre placentaire ne peut pas être comparé à une commune bougie filtrante et, par conséquent, les dimensions plus petites du virus tuberculeux dans sa forme dite filtrante n'ont pas trop d'importance. Un filtre biologique comme le placenta normal qui peut même sélectionner les substances dissoutes dans le plasma, en laissant passer les substances utiles et en retenant les dangereuses (par ex. les substances toxiques), ne peut logiquement présenter un comportement différent vis-à-vis de la forme bacillaire et granulaire ou, en tout cas, de la forme filtrable du virus tuberculeux. Car si, au contraire, il existe des lésions placentaires, il est évident que le passage pourra être facile pour les deux formes (N. Petragnani [330]) et Veratti [331]).

En apparence ce raisonnement est logique, mais il présente un point faible. C'est-à-dire que ces AA., en partant de quelques affirmations des partisans du passage transplacentaire des formes filtrantes selons lesquelles la différence des dimensions entre les formes bacillaires et les formes filtrables du virus tuberculeux aurait l'importance la plus grande, se bornent à discuter la conception mécanique du filtre placentaire, oubliant, eux-aussi, d'envisager la question sous d'autres aspects, par ex. sous l'aspect biologique.

On sait que plusieurs barrières cellulaires de l'organisme, tout en présentant une continuité anatomique et physiologique absolue, telle à leur permettre de fonctionner comme des surfaces de sélection même pour les substances dissoutes, peuvent être traversées par des éléments morphologiques. En effet, des phénomènes particuliers de tropisme règlent physiologiquement les migrations des leucocytes et, en des conditions pathologiques, nous voyons qu'il arrive la même chose pour beaucoup de microbes.

De plus, l'on connaît des cas dans lesquels certaines migrations se réalisent pour déterminer des phases du cycle vital d'un parasite et non pour d'autres phases. Le phénomène est bien connu chez certains vers et chez les protozoaires et nous pouvons aussi citer un esemple typique chez le spirochète de la fièvre récurrente, qui se répand, à travers l'or-

---

([330]) loc. cit.
([331]) Riv. di Patol. e Clin. della Tub., 1930, fasc. 8.

ganisme du poux, à partir du tube digestif jusqu'aux lacunes lymphatiques des pattes et des antennes, dans une phase granulaire et invisible et non pas dans la forme typique du spirochète.

Rien n'empêche donc de penser que des phénomènes analogues puissent se vérifier même à propos du virus tuberculeux; les formes filtrantes, qui sont certainement moins toxiques et moins pathogènes que celles non filtrantes peuvent traverser insidieusement la barrière placentaire, à cause d'un de ces phénomènes inexplicables de tropisme qui sont bien connus en parasitologie, sans éveiller les défenses de l'organisme comme dans le cas d'éléments trop toxiques et virulents.

De ce qu'on a exposé jusqu'ici, il ressort que dans les conclusions de la plupart des AA. qui se sont occupés de l'argument, la conception prédominante est celle d'un réel passage trans-placentaire des formes filtrantes du virus tuberculeux. C'est par cette conception que certains cliniciens et hygiénistes tâchent d'interpréter ces obscurs phénomènes symptômatologiques et épidémiologiques dont on ne pourrait pas chercher la solution dans l'action directe du virus tuberculeux dans sa forme typique acido-résistante.

Le pouvoir pathogène bien différent qu'on admet dans les formes filtrantes peut offrir ensuite la manière d'interpréter les manifestations diverses et parfois opposées qui ont été signalées chez les enfants issus de mères tuberculeuses, manifestations qui évoluent tantôt à des dystrophies, à la cachexie et même à la mort, tantôt à l'acquisition de pouvoirs défensifs meilleurs, vis-à-vis d'infections tuberculeuses ultérieures.

Calmette et ses collaborateurs sont même enclins à admettre que les anticorps qu'on parvient souvent à déceler chez les enfants issus de mères tuberculeuses, puissent être plus facilement attribués à une réaction immunitaire active vers l'infection due au virus filtrable, plutôt qu'à une transmission passive trans-placentaire d'anticorps maternels.

## III.

### La perte de la virulence dans le B. tuberculeux.

Les heureuses tentatives de vaccination qui ont été effectués pour certaines maladies infectieuses, parfois même avant la connaissance exacte des agents etiologiques (variole, rage), ont incité à rechercher des procédés analogues pour toutes les affections dues à des microbes. Les études sur ce sujet se sont multipliées particulièrement à l'égard de quelques maladies très importantes par rapport à la vie sociale et que l'on parvient très difficilement à dominer par les moyens chimiothérapeutiques ou prophylactiques.

Peut-être, en ce qui concerne la tuberculose, les tentatives de vaccination ont été plus nombreuses et plus ténaces que pour toute autre infection. Cela a relevé de l'importance exceptionelle de la maladie au point de vue social, de sa diffusion chez l'homme et les bovidés du manque d'autres moyens de defense, et du fait que les résultats de ces tentatives ont toujours laissé apercevoir la possibilité d'atteindre le but, sans, toutefois, qu'on y ait réussi complètement.

Les moyens essayés pour cette vaccination peuvent être groupés en trois catégories: produits bactériens; bactéries mortes; bactéries vivantes.

Cela signifie donc que la route suivie pour la tuberculose n'est pas essentiellement différente de celles qu'on a suivies pour les maladies infectieuses les plus diverses. Mais que de variétés d'applications et combien de diversité de conceptions dans chacune des catégories mentionnées.

On peut affirmer que dans la vaccination pratiquée dans un but curatif, les trois tendances se contendent, même actuellement, le champ. Mais il est évident que dans la vaccination ayant un but préventif, on ne peut donner aucune valeur aux méthodes qui réposent sur l'emploi des produits bactériens; et de même il ressort, d'un grand nombre de recherches, que l'orientation moderne plaide, de plus en plus, en faveur des vaccins vivants en comparaison des vaccins morts.

Cela s'explique par le fait que, tandis que les vaccinations thérapeutiques consentent l'application de méthodes même très longues et basées sur l'administration répétée du médicament en séries progressives, les vaccinations préventives exigent d'être pratiquées en une seule fois, ou en peu de fois, ce qui peut être le mieux effectué en employant des vaccins vivants.

Les grandes difficultés d'ordre scientifique et pratique, qui rendent difficile le choix et l'application d'une méthode vaccinale, sont augmentées par des éléments de caractère personnel et par des tendances scolastiques irréductibles.

En Italie, par exemple, quelques AA., en considération du fait que Maragliano a lancé, le premier (1903) l'idée de la vaccination antituberculeuse préventive chez l'homme moyennant l'emploi de vaccins morts, ont voulu exalter à tout prix les vaccins morts en comparaison des vaccins vivants.

Il se produit ainsi une étrange confusion entre les deux questions: celle qui se rapporte à la revendication de la priorité pour l'idée concrète de la vaccination préventive chez l'homme, priorité qui appartient effectivement à Maragliano; et celle qui a trait à l'efficacité plus ou moins grande de types différents des vaccins, et, qui peut être résolue seulement avec des éléments techniques et par un jugement impartial de l'ensemble des données qui existent sur le sujet en question.

Et si on veut faire une revendication à propos de l'emploi des vaccins vivants dans la vaccination antituberculeuse préventive, il faut citer le nom de Angelo Maffucci qui, en 1902-1903, faisait, en même temps que Behring, ces premiers et intéressants essais de vaccination des bovidés et entrevoyait, bien que d'une façon moins concrète que Maragliano, la possibilité des vaccinations préventives chez l'homme. Et l'on est rédevables à A. Ascoli d'avoir insisté sur ce point dans ces nombreuses pubblications (332).

Après cela, voyons donc quelles sont les bases dottrinales des vaccinations moyennant les bacilles morts ou les bacilles vivants.

Maragliano, qui a effectué dans le champ pratique les premiers essais de vaccination préventive, a employé, comme on le sait, un vaccin constitué de bacilles tués par la chaleur et il l'a administré par voie cutanée, par le moyen de scarifications, analoguement à ce qu'on fait pour la vaccination jennérienne. Si l'on considère que la peau est un organe auquel on reconnaît aujourd'hui des fonctions particulières en ce qui a trait à l'élaboration des antigènes et à la formation des anticorps, on comprendra pour quelle raison Maragliano a choisi cette voie. En effet il considère l'immunité antituberculeuse au point de vue hématique et humoral et il voit, dans la formation des anticorps, le premier élément de la protection de l'organisme.

Mais si, par suite de la vaccination pratiquée moyennant des bacilles tués, la formation des anticorps est indiscutable, l'efficacité de ces anticorps, comme moyen de destruction du b. tuberculeux et comme expression de l'immunité tuberculeuse n'est point démontrée.

En effet, si nous nous rapportons aux anticorps décelables moyennant la déviation du complément, nous savons parfaitement qu'ils ne présentent pas des obscillations quantitatives qui synchronisent avec les différentes phases d'évolution de la tuberculose (progression ou régression )et qu'on n'a jamais pu démontrer de leur part une action d'immunisation passive.

La production d'anticorps, consécutivement à l'administration de bacilles tués, ne constitue donc pas une épreuve de la valeur immunisante des vaccins morts.

Il est cependant vrai que quelques AA., suivant la conception de Maragliano, affirment, sur la base de recherches pratiquées sur des animaux de laboratoire, que l'inoculation de bacilles morts confère une résistance plus ou moins élevée et nous citerons parmi ces AA. Langer (333), Petroff

---

(332) V. surtout in: «Biochimica e Terapia Sperim.», 1926, fasc. 8°.

(333) Klin. Woch., 1924, 1944; Deutsche med. Woch., 1925, 513; Med. Klin., 1927, 351.

et Stewart (334), Vaudremer (335), Melzak (336), Verdina (337), etc. Mais ces recherches, au lieu d'être confirmées, ont été nettement contredites par les expériences de tisiologues insignes, parmi lesquels il suffira de citer Uhlenhuth et Jotten (338), Selter (339), Bruno Lange et Freund (340), Dold (341), Bisceglie et Ichasz-Schäffer (342), etc.

Etant ainsi fortement contestée l'efficacité des vaccins morts l'attention des savants s'est récemment concentrée sur les vaccins constitués par des bacilles vivants et on est rédevables surtout à Calmette d'avoir au premier plan une question qui, après les premiers essais de Maffucci et de Behring avait toujours été très débattue.

Calmette, le défenseur le plus éminent de la vaccination pratiquée à l'aide des bacilles vivants, conçoit l'immunité tuberculeuse d'une façon tout à fait différente de celle qui a été précédemment exposée et qui est basée sur la production des anticorps. Il remarque qu'à la suite de l'introduction de bacilles pathogènes dans des organismes qui leur sont réfractaires, on observe en général la lyse ou destruction par phagocytose ou bien l'élimination s'effectuant d'une façon quelconque, des bacilles eux mêmes, alors que l'introduction de bacilles tuberculeux en des organismes réfractaires n'entraîne aucune de ces conséquences et les bacilles s'arrêtent localement, pour longtemps, sans envahir l'organisme et résistent ténacement aux mécanismes défensifs de ce dernier. L'immunité antituberculeuse naturelle s'appuie donc sur une tolérance et non pas sur une destruction rapide des microbes.

Quant à l'immunité acquise par suite de l'administration de bacilles tuberculeux vivants, elle est amplement démontrée par la pathologie expérimentale, mais, loin d'être liée à la présence de substances antibactériennes, elle est en relation étroite avec le phénomène bien connu de Koch. On sait que ce phénomène consiste dans le fait suivant: si un cobaye, préalablement infecté avec le bacille de la tuberculose et chez lequel le processus tuberculeux évolue, est soumis à réinoculation, le niveau de la peau où cette réinoculation est pratiquée, est atteint d'un processus inflammatoire aiguë, suivi de nécrose, de l'expulsion du foyer nécrotique et d'une cicatrisation rapide, sans participation des glandes régionales ni diffusion des bacilles réinoculés qui sont expulsés avec les

---

(334) Journ. Immunol., vol. 10, 1925, 677 e vol. 12, 1926, 97.
(335) C. R. Soc. Biol., vol. 94, 1926, 425.
(336) C. R. Soc. Biol., vol. 96, 1927, 1493.
(337) Bull. Ist. Sierot. Milanese, vol. 3, 1924, p. 389.
(338) Deutsche med. Woch., 1920, 877.
(339) Zeitschr. Hyg., vol. 95, 1922, 232. Deutsche med. Woch., 1924, 1825.
(340) Zeitschr. Hyg., vol. 105, 1926, 571.
(341) Deutsche med. Woch., 1912, 12.
(342) Zeitschr. Immun. forsch., vol. 49, 1926, 251.

matériaux nécrosés. Le phénomène va s'effectuer même si le processus tuberculeux est extraordinairement atténué, localisé et latent.

L'organisme préalablement tuberculisé entre donc dans un état d'*allergie*, à cause duquel il ne peut plus supporter de nouvelles réinoculations éventuelles. Et c'est précisément par ce phénomène que, d'après Calmette et son école et, désormais, suivant la grande majorité des savants, se développe l'immunité artificielle de l'homme.

Aujourd'hui on admet qu'en général le nouveau-né naît avec une sensibilité à l'infection tuberculeuse. Si le milieu où il croît est très infecté (vie en commun avec la mère ou d'autres conjoints tuberculeux) il est bien facile qu'il contracte des infections massives initiales, lesquelles, à cause de la réceptivité naturelle ou de la résistance congénitale insuffisante du sujet, vont déterminer des formes aiguës et mortelles (infection miliaire, méningite, etc.). Mais si l'enfant est soustrait aux milieux riches en bacilles, il arrive, dans la plupart des cas, que les charges pauci-bacillaires que, presque inévitablement il absorbe surtout dans les villes, peuvent déterminer de simples affections ganglionnaires non évolutives, dans lesquelles les bacilles tuberculeux démeurent vivants pour un certain temps.

En ces conditions, l'organisme entre dans un état d'allergie qui peut être décelé moyennant les réactions à la tuberculine; et c'est grâce à l'intolérance acquise, que les nouvelles charges bacillaires arrivant à l'organisme en sont expulsées et leur implantation est empêchée. Si l'on considère que les apports naturels de bacilles tuberculeux ne sont jamais si massifs que les doses qu'on administre par voie artificielle, on com prend comment l'expulsion peut s'effectuer, en général, sans manifestations nécrotiques comme dans le phénomène de Koch, et s'accompagner seulement par de petites réactions locales qui peuvent même passer inaperçues. Toutefois, si ces réinfections sont fréquemment répétées et surtout si elles sont détérminées par des charges bacillaires remarquables, la réactivité (intolérance) de l'organisme s'exagère de façon que des phénomènes locaux cliniquement appréciables se manifestent au niveau du point de réinoculation.

L'état allergique persiste jusqu'à ce que dans l'organisme subsiste le foyer infectieux qui l'a déterminé et qui renferme les bacilles vivants. Si ces bacilles sont éliminés par l'organisme, l'état allergique disparaît lui-aussi.

La résistance anti-tuberculeuse conçue de la sorte est évidemment bien différente de la simple immunité due aux anticorps. Une résistance tout à fait analogue peut aussi se vérifier dans quelques autres maladies bactériennes ou protozoaires et on la connaît bien dans la syphilis. Son mécanisme n'est pas hématique, mais il consiste dans une réaction parti-

culière, de nature allergique, amenant l'élimination des microbes réinfectants.

Cependant la résistance antituberculeuse acquise par voie naturelle, par suite de l'implantation de foyers tuberculeux latents, présente un danger. Cela tient au fait que les bacilles tuberculeux, après avoir démeuré longtemps inertes, peuvent rompre leur équilibre avec l'organisme et se répandre à distance du foyer initial, exerçant leur activités pathogènes. Même dans ce cas, l'allergie de l'organisme entrave, habituellement, la généralisation et la production de sindrômes aigus à évolution rapide; elle détermine au contraire des localisations dans les différents organes (notamment dans l'appareil respiratoire) avec tendance à la production d'inflammations locales expulsives, qui relèvent elles-aussi, du phénomène de Koch. Il paraît que, suivant les conceptions modernes, l'origine de la tuberculose pulmonaire et la relative formation d'ulcérations et de cavernes soient de cette nature.

Or, c'est en suivant ces conceptions que Calmette a jeté les bases de la vaccination antituberculeuse moyennant des bacilles vivants mais avirulents. Il a pensé que si, avant une contamination naturelle quelconque, on détermine une localisation artificielle à l'aide de bacilles vivants mais avirulents, aptes à résister longtemps et à créer, par conséquent, un état allergique durable, on peut obtenir un état de résistance sans les dangers de réinfections et généralisations futures.

Pour indiquer l'état de résistance conçu de cette manière, Calmette a adopté l'expression de « prémunition », qui fut proposée, la première fois, par Edm. Sergent et Donatien pour désigner l'état d'infestation latente protectrice, qui se verifie dans certaines maladies protozoaires (piroplasmose des bovidés).

Voila donc les deux tendances doctrinaires opposées, sur lesquelles se basent les deux types fondamentaux de vaccination préventive: immunité due aux anticorps, d'après la conception des partisans des vaccins morts; prémunition due à l'allergie rapportable au phénomène de Koch, dans la conception des partisans des vaccins vivants.

Il est cependant juste de reconnaître que la manière de réaction de l'organisme vis-à-vis des deux types différents de vaccination n'est pas si nettement diverse qu'on pourrait le croire d'après ce schéma théorique. En effet nombre de travaux montrent que les bacilles morts peuvent eux-aussi, déterminer un état d'allergie, et qu'il est même possible de déterminer le phénomène de Koch moyennant deux inoculations successives de bacilles morts, ainsi que l'ont démontré Boquet et Nègre ([343]). Il

([343]) C. R. Soc. Biol., vol. 88, 1923, 1013; vol. 89, 1923, 1025; vol. 91, 1924, 335 e 337.

y a ensuite plusieurs AA. qui ont remarqué la réactivité à la tubercu⁶ine de la part des animaux inoculés avec des bacilles morts, et nous citerons (en plus des AA. déjà mentionnés parmi les partisans des vaccins morts) Boecker et Nakayama [344], Krompester [345], Coulaud [346], Crawford [347], Nakayama [348].

Calmette, lui-même [349] reconnaît que le phénomène de Koch et les réactions tuberculiniques ne sont pas exclusifs des bacilles vivants et que même les bacilles morts peuvent les déterminer.

Toutefois il ressort, de l'ensemble des données expérimentales, que l'allergie déterminée par les bacilles morts exige pour sa production des doses de matériel élevées; qu'elle est inconstante et surtout qu'elle est transitoire et bien moins durable que l'allergie due aux bacilles vivants. Cela, en relation avec le fait que les bacilles morts sont éliminés bientôt de l'organisme, tandis que les bacilles vivants ont une tendance à constituer des foyers très durables.

L'allergie due au bacilles morts est donc pratiquement inutilisable à cause de sa courte durée et une véritable « prémunition » se prolongeant pour une période de temps remarquable, peut être obtenue seulement à la suite de l'administration de bacilles vivants.

En conclusion, la plupart des savants va généralement s'orienter, aujourd'hui, vers la vaccination pratiqueé moyennant des bacilles vivants, malgré les craintes dont nous parlerons plus loin. On doit reconnaître que la vaccination à l'aide de vaccins vivants a été essayée plusieurs fois, comme la seule vaccination efficace, même avant que la doctrine de l'allergie eût été formulée d'une manière précise.

La plus grande difficulté qu'on rencontrait jadis, était représentée par le choix d'un vaccin vivant efficace et inoffensif.

Angelo Maffucci, et Behring avec son bovo-vaccin, ont fait leurs premières tentatives de vaccination avec des bacilles vivants et, en suivant la conception d'une différente action pathogène de la part des types bacillaires des différents organismes, ils ont employé le type humaine pour la vaccination des bovidés. Mais on doit admettre que cette vaccination pourrait exposer au danger d'une diffusion du type bacillaire humain, par le lait ou par d'autre voies d'élimination. On peut faire les mêmes observations pour le *tauruman* de Koch et Schutz, et pour les vaccins homogénéisés de Arloing.

---

(344) Zeitschr. Hyg., vol. 101, 1923, pag. 1 e 11.
(345) Ann. Inst. Past., 1923.
(346) C. R. Soc. Biol., vol. 89, 1923, 1023.
(347) Journal Amer. Vet.-Med. Ass., vol. 64, 1923, 228.
(348) Zeitschr. Hyg., 1924, vol. 102, 581.
(349) Revue Phtisiol., 1930, 329.

Suivant la même conception, on employa parfois les bacilles aviaires pour la vaccination des bovidés (Mac Fadyean, Sheater, Edwards et Minett), mais il paraît que la méthode, tout en étant depourvue du danger de la diffusion à l'homme, ne soit pas assez efficace.

En ce qui concerne les essais de vaccination humaine moyennant des types tuberculeux hétérologues (c'est-à-dire non humains) nous allons nous borner à rappeler le vaccin de Friedmann (b. tuberculeux de la tortue), à propos duquel il existe une litérature considérable qui, dans son ensemble, est absolument contraire à son action protectrice.

Autrefois on eut recours à l'emploi de formes que l'on croyait dérivées du polymorphisme du b. tuberculeux et l'essai le plus connu qui a été fait dans ce sens, ce fut celui de Ferran qui utilisa le bacille dit « $\alpha$ » largement employé chez l'homme en Espagne et en d'autres pays. On doit citer aussi des tentatives experimentales, faites toujours dans cette direction, par Sanfelice [350], moyennant des formes acido-résistantes dites de dérivation tuberculeuse et les essais de Vaudremer [351] qui employa des formes bacillaires développées dans bouillon de pomme de terre non glycérinée. Mais en tous ces cas il s'agit de formes dont les rapports avec le b. tuberculeux sont assez douteux et à propos desquelles on doit encore faire d'autres recherches.

Nous rappelerons aussi les essais audacieux d'administration de bacilles vivants et plus ou moins virulents, essais parmi lesquels le plus connu est celui pratiqué par Selter moyennant des bacilles simplement broyés dans le mortier (*vital-tubercolina*).

D'un autre côté, plusieurs AA. ont pensé d'utiliser des vaccins composés de bacilles humains et bovins atténués par divers moyens, et parmi ces vaccins, celui de Arima et de ses collaborateurs (Vaccin *A O*) est aujourd'hui le plus connu; il s'agirait d'une émulsion de bacilles humains vivants, atténués par la culture sur milieux additionnés d'une saponine spéciale et privés de l'acido-résistance. Mais un échantillon de ce vaccin que j'ai eu l'occasion d'examiner s'est montré constitué de bacilles morts, de sorte qu'on doit douter de la nature vivante de ce vaccin [352].

Quelques observations qui avaient démontré que les bacilles acido-résistants para-tuberculeux peuvent donner une tuberculine apte à produire des réactions chez les organismes tuberculisés et que, moyennant la déviation du complément, on peut établir un certain rapport antigénique entre bacilles tuberculeux et b. para-tuberculeux, ont poussé quelques AA. à étudier le pouvoir vaccinant de ces derniers. Mais les ex-

---

(350) Ann. d'Igiene, 1919, 1920 e 1921; Boll. Ist. Sieroter. Mil., vol. I e II.
(351) C. R. Soc. Biol., vol. 94 e 95, 1926.
(352) Pour toutes les citations ayant trait à cette partie, cfr. la publication de *Calmette*.

périences pratiquées par plusieurs AA. et surtout par Bruno Lange [353], ont démontré qu'en réalité les bacilles para-tuberculeux peuvent rester, dans les organismes inoculés, jusqu'à 32 semaines, mais qu'ils ne vaccinent pas ni déterminent pas de l'allergie vis-á-vis de la tuberculine.

En somme, aucun des essais pratiqués suivant les conceptions que nous avons exposées tout à l'heure, n'a eu un vrai succès et une large diffusion, et c'est seulement grâce à la découverte et l'application qu'on a fait des *bacilles tuberculeux devenus avirulents d'une façon stable*, que la vaccination antituberculeuse à l'aide de bacilles vivants a pu s'imposer à l'attention des savants et atteindre une importance qu'on ne peut pas lui méconnaître.

Parmi les bacilles tuberculeux avirulents, le bacille le plus connu c'est le « B. C. G. » de Calmette et Guérin, formant la base du procédé le plus accrédité et le plus répandu de vaccination préventive. Mais en examinant ce qui a paru sur ce sujet dans la littérature médicale, on rencontre plusieurs autres exemples de bacilles non virulents, généralement peu connus, mais donnant, dans leur ensemble, l'impression que le phénomène de la perte du pouvoir pathogène soit plus fréquent qu'on ne le suppose.

C'est pourquoi nous avons jugé qu'il était utile de résumer toute la littérature se rattachant à ce sujet. Dans notre exposition nous commencerons par le B. C. G. qu'on peut considérer comme le b. tuberculeux avirulent le plus complètement étudié.

### *La souche bovine de Calmette et Guérin (B.C.G.)*

Elle est actuellement si bien connue qu'il peut sembler superflu d'en faire objet de relation. Mais les controverses se rapportant à cette souche ont été, même dernièrement, si nombreuses, qu'une exposition synthétique du sujet est justifié.

Le B.C.G. tire son origine d'une souche virulente qui, après 230 passages sur pomme de terre additionnée de bile de boeuf glycérinée à 5%, est devenue avirulente. Les passages sur bile ont été initiés en 1906 et continués pendant 13 années.

L'avirulence du B.C.G. doit être conçue dans le sens qu'il a perdu toute aptitude à déterminer, dans les organismes où il est inoculé, la formation de tubercules réinoculables en série. Il a gardé, par contre, la propriété de produire une tuberculine active, ainsi que Borrel, Boez et De Coulon (cités plus haut) l'ont démontré.

---

(353) Deutsche med. Woch., 1920, pag. 763 e 1280; 1921, pag. 528; Zeitschr. f. Hyg., vol. 93, 1921, 43.

La colorabilité et l'aspect cultural de cette souche ne se différencient essentiellement des caractères d'une souche bovine ordinaire.

Lorsque le B.C.G. est inoculé sous la peau d'animaux sensibles à la tuberculose, il détermine la formation d'un abcès local dense et renfermant de nombreux bacilles acido-résistants, sans caséification des ganglions régionaux et sans tendance à l'envahissement progressif; l'abcès peut persister longtemps, mais à la fin il tend à se réabsorber.

Lorsque le B. C. G. est inoculé par voie intra-péritonéale. il détermine au début un tableau semblable à celui qui est dû aux bacilles tuberculeux virulents et qui consiste dans la production de nodules à la surface des viscères abdominaux et dans la formation d'un chapelet de foyers purulents denses et de grandeur différente, riches en bactéries, et se localisant dans l'épaisseur de l'épiploon. A partir d'un mois après l'inoculation les nodules viscéraux regressent peu à peu, tandis que les formations de l'épiploon persistent encore longtemps, sans montrer cependant aucune tendance à se généraliser; à la longue, ces formations vont aussi se réabsorber.

L'inoculation par la voie intra-veineuse donne lieu tout d'abord à une granulie pulmonaire, hépatique et splénique qui semble indiquer une véritable tuberculose; mais au bout de 30-40 jours, toutes les lésions commencent à regresser sans arriver jamais à une caséification; puis, dans un délai de 7-10 mois, on a une guérison absolue, même dans le sens histologique le plus large.

Ces phénomènes se manifestent chez les cobayes et les lapins, même après des doses massives de 5, 10 et jusqu'à 15 milligrammes de culture.

Comme on le voit, l'action biologique de cette souche ne consiste pas dans un manque absolu de pouvoir pathogène, mais seulement dans l'inaptitude à déterminer une tuberculose évolutive.

Les matériaux purulents et pathologiques provenant des animaux infectés avec le B.C.G., inoculés à d'autres animaux, ne reproduisent pas en série les lésions citées et s'épuisent. Les repiquages en série, pratiqués en alterannt les cultures dérivées des matériaux pathologiques et les inoculations à des animaux neufs, ne parviennent pas à produire la virulentation de la souche.

Pour garder intacte l'action biologique du B. C. G., on prépare les cultures sur pomme de terre au bouillon glycériné; mais après 10 passages dans ce milieu (un passage tous les 20-25 jours), le B. C. G. doit être cultivé deux fois consécutives sur pomme de terre biliée.

D'après ces constatations Calmette et ces collaborateurs affirment que le B.C.G. constitue desormais un *virus fixe* obtenu moyennant l'action de la bile, et non modifiable, surtout dans le sens de la virulentation.

C'est pour cela que Calmette n'a pas hésité à en affirmer l'innocuité absolue et à l'employer pour la vaccination humaine et bovine.

Or, un premier problème s'impose à la discussion: *le B.C.G. est-il vraiment un virus fixe qui n'est plus apt a se virulenter et qui serait par conséquent inoffensif?*

Il y a des AA. qui croient que le B.C.G. puisse manifester une action pathogène ou que, du moins, il ne soit pas totalement inoffensif. Nous citerons, entre autres, Watson (354), Lignières (355), Nobel et Solé (356), Korschun, Dwijkow et Corochnikowa (357), Chiari, Nobel et Solé (358), Bocchini (359), Hutiva (360), Petroff en collaboration avec Branch et Steenkin (361), et, enfin, Hormaeche (362).

Ce dernier Auteur aurait observé chez des cobayes inoculés la virulentation di B.C.G. jusqu'à la provocation d'une tuberculose osseuse, à la suite d'une infection due au streptocoque du type Bokmeyer; mais, pour le moment, cette observation si exceptionnelle n'a pas encore été confirmée. Par contre Tseknovitzer (363) affirme que la Commission de l'Ukraine n'a jamais observé aucune virulentation du B.C.G. par suite d'influences dues au streptocoque. Et récemment. Saenz (363*bis*) a démontré que l'infection concomitante de bactéries pseudo-tuberculeuses (*B. Preisz-Nocard*) ne serait pas capable de virulenter le B.C.G.

Parmi toutes les recherches qui plaideraient en faveur de la possibilité d'une virulentation ou, au moins, du manque d'innocuité absolue de la part du B.C.G., celles de Petroff sont les plus connues. Cet A. affirme que pratiquant l'isolement sur son milieu nutritif, on réussit à distinguer deux types de colonies (dissociation); les unes (R) plus nombreuses et plus rugueuses, mais non pathogènes les autre (S), fort rares, lisses et pathogènes.

Le phénomène de la dissociation des cultures des mycobactéries n'est pas chose nouvelle il avait été observé même avant Petroff, par Baerthlein et Toyoda (364) pour la mycobactérie de la grenouille et par Gildemeister (365) pour le bacille de Friedmann.

---

(354) Journ. Amer. Vet. Med. Ass., 1928, 799.
(355) Presse Méd., 1927, 948.
(356) Mon. schr. Kind. heilk., 1927, 408.
(357) Centr. Bakt., I, O., vol. 111, 1929, 297.
(358) Zeitschr. Tub., vol. 50, 1928, 24.
(359) Riv. Patol. e Clin. Tub., 1928, 81.
(360) Allatorvosi Lapok, 1929, 45.
(361) Journ. Americ. med. Ass., vol. 89, 1927, 285; Americ. Rev. Tub., vol. 19 e 20, 1929; Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., vol. 24, 1927, 632.
(362) C. R. Soc. Biol., vol. 104, 1930, 420.
(363) Ann. Inst. Past., 1927, pag. 322 e 1928, pag. 246.
(363 *bis*) C. R. Soc. Biol., vol. 106, 1931, p. 433.
(364) Centr. Bakt., I, Ref., vol. 57, 1913, 281.
(365) Centr. Bakt., I, O., 87, 1921, 513.

Que la dissociation existe réellement pour le B. C. G. c'est un fait qui a été désormais confirmé par Gerlach [366], Kraus [367], Piazecke-Zeyland [368], Koschkine [369] et par Calmette lui-même en collaboration avec Plotz [370]. Mais aucun de ces AA. n'à pas confirmé la virulence des colonies « S », et Calmette et Lotz, ayant examiné la forme « R » isolée par Petroff affirment qu'elle présente les caractères d'un type bacillaire humain et la considèrent comme le résultat d'une contamination accidentelle.

D'ailleurs, les observations, souvent imprécises, des AA. susmentionnés, sont inadmissibles par le fait qu'il existe une masse énorme de recherches aboutissant à un résultat complètement opposé et confirmant l'innocuité du B.C.G. Ces recherches, en effet, démontrent l'impossibilité de virulenter à nouveau le B.C.G., même en ayant recours aux essais de débilitation organique les plus divers, aux voies d'inoculation les plus différentes, chez les animaux à experience les plus différents, et moyennant tous les artifice conseillés par la technique.

Il serait trop long de relater en détail ces recherches; toutefois nous croyons opportun de citer, du moins, le nom de 70-80 Auteurs qui, de plein accord avec Calmette, affirment en principe l'innocuité du B. C. G. et l'impossibilité qu'il devienne virulent, bien que quelques uns d'entre eux énoncent des reserves d'ordre purement théorique: Heimans [317], Remlinger e Bailly [372], Tseknovitzer [373], Coulaud [374], Kuhn [375], Pepeu [376], Van Everdingen [377], De Potter [378], Fuijoka [379], Elbert, Gelbert e Zoukermann [380], Chiari [381], Arena [382], Igersheimer e Schlossberger [384], Kraus [385], Leuret e Caussimon [386], Okel et Parish [387],

---

[366] Revue Gén. Méd.-Vét., 1929, 392.
[367] Zeitschr. Immun. forsch., vol. 61, 1929, pag. 454 e vol. 62, 1929, pag. 339.
[368] Ann. Inst. Past., 1929, pag. 1002 e C. R. Soc. Biol., 1929, 3º, 356.
[369] Citato da *Tseknovitzer* (v. avanti).
[370] Americ. Rev. Tub., vol. 19, 1929, 567.
[371] C. R. Soc. Biol., vol. 95, 1926, 242.
[372] Ann. Inst. Past., 1927, 286.
[373] Ann. Inst. Past., 1927, 322 e 1928, 246.
[374] Ann. Inst. Past., vol. 41, 1927, 289.
[375] C. R. Soc. Biol., vol. 97, 1927, 1520.
[376] Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1927, VI, 161.
[377] Inaug. Diss. Utrecht, 1928.
[378] C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 1618.
[379] Wiener klin. Woch., 1928, 1220.
[380] Ann. Inst. Past., 1928, 76.
[381] Wiener klin. Woch., 1928, 798.
[382] Bull. Acad. Méd., vol. 100, 1928, 1220.
[383] Zeitschr. Augenkl., vol. 66, 1928, pag. 120.
[384] Med. Klin., 1928, pag. 1898.
[385] Wiener klin. Woch., 1928, 441; Centr. Bakt., I, O., 1927, vol. 104, 65.
[386] C. R. Soc. Biol., vol. 98, 1928, pag. 952 e 1537; vol. 99, 1928, pag. 1725, 1727 e 1981.
[387] Brit. Journ. exp. Path., vol. 9, 1928, 34.

Lange e Lydtin (388), Obuchowskyi et Paschkowskyi (389), Parisot, Fernier et Saleur (390), Rollé (391), Tseknovitzer (392), Koschkine (393), Zeyland e Piazecka-Zeyland (394), Sieberschmidt (395), Gerlach (396), Iensen, Mörch e Orskow (397), Fuijoka et Fuchs (398), Ciuca, Francke et Vitner-Rosenthal (399), Isabolinsky et Gitowitsch (400), Kirchner (401), Kirchner e Schnieder (402), Kraus (403), Kraus et Gerlach (404), Lange et Clauberg (405), Moriquand e Bertoye (406), Nasta (407) Piazecka-Zeyland (408), Mauriac et Aubertin (409), Rankin (410), Schroeder et Crawford (411), Togounova, Migounov et Bajadakova (412), Grasset et Perret-Gentil (413), Comis (414), Chaussinaud et Tempé (415), Nélis et Picard (416), Popper, Raileano e Pincou (417), Park K. H. (418), Bocchetti et Ilvento (419).

À notre avis, parmi ces nombreuses recherches, celles de Parisot et de ses collaborateurs ont une valeur tout à fait particulière; en effet ces AA. ont pu démontrer la fixité de l'avirulence du B. C. G. après un long séjour dans les abcès humains provoqués moyennant l'inoculation sous-cutanée.

---

(388) Zeitschr. Tub., vol. 50, 1928.
(389) Centr. Bakt., I, Ref., vol. 91, 1928, 230.
(390) Revue de la Tub., 1928, 50.
(391) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 90.
(392) Ann. Inst. Past., 1928, pag. 799 e 1930, pag. 162.
(393) Citato da *Tseknovitzer*.
(394) Ann. Inst. Past., 1928, pag. 61 e 652; 1929, pag. 767.
(395) Schw. med. Woch., 1928, 85.
(396) Revue Gén. Méd. Vét., 1929, 392.
(397) Ann. Inst. Past., 1929, 785.
(398) Zeitschr. Immun. forsch., vol. 60, 1929, 121.
(399) Ann. Inst. Past., 1929, 168.
(400) Centr. Bakt., I, O., vol. 112, 1929, 35.
(401) Ann. Inst. Past., 1929, 989.
(402) Beitr. klin. Tuberk., 1929.
(403) Zeitschr. Immun. forsch., vol. 61, 1929, 454.
(404) Zeitschr. Immun. forsch., vol. 62, 1929, 339.
(405) Centr. Bakt., I, O., vol. 110, 1929, 183*.
(406) Bull. Acad. Méd., vol. 101, 1929, 592.
(407) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 915 e vol. 101, 1929, 210.
(408) Ann. Inst. Past., 1929, 1002; C. R. Soc. Biol., 1929, 3°, 356.
(409) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 738.
(410) Ann. Inst. Past., 1929, 878.
(411) Journ. Amer. Vet. Med. Ass., 1929, 772.
(412) Ann. Inst. Past., 1929, 857 e 867.
(413) Ann. Inst. Past., vol. 45, 1930, pag. 659.
(414) C. R. Soc. Biol., vol. 103, 1930, 978.
(415) Ann. Inst. Past., vol. 45, 1930, pag. 65.
(416) C. R. Soc. Biol., vol. 105, 1930, 185.
(417) C. R. Soc. Biol., vol. 103, 1930, 927.
(418) Revue Phtisiol., 1930, 361.
(419) Lotta contro la Tuberc., 1930, pag. 231.

Maintenant, il reste à se demander comment un certain nombre d'AA. ait pu défendre la thèse de la virulence du B.C.G.

Il est vraisemblable que quelques uns de ces AA. se soient trompés dans le sens d'interpréter comme tuberculose évolutive ces lésions admises par Calmette lui-même, et qui non seulement regressent, mais sont vraiment indispensables pour stimuler l'organisme à la réaction allergique. D'après Calmette, un bacille totalement avirulent et inerte ne serait pas approprié pour déterminer la prémunition qui exige non seulement la présence des bacilles dans l'organisme, mais aussi un état particulier de symbiose entre ces bacilles et les cellules.

Mais pour les autres AA., et particulièrement pour Petroff, cette interprétation n'a pas de valeur et relève très probablement de fautes de nature peut-être technique (échange de cultures, souillements, etc.).

De tels faits ne sont pas si exceptionnels qu'on le croit et il est bon de rappeler, à ce propos, la discussion bien connue qui s'éleva lorsque Kolle, Schlossberger et Pfannestiel ([420]), en pratiquant une dizaine de passages en série chez des cobayes è l'aide de plusieurs b. para-tuberculeux, communiquérent d'avoir obtenu la virulentation de ces derniers et leur transformation en souches tuberculigènes. Toutefois, ni Rondoni et Dal Collo ([421]), ni Strauss ([422]), Heymaus et Strauss ([423]), ni Bruno Lange ([424]), ni d'autres AA., n'ont réussi à obtenir ces résultats sout en partant des mêmes souches. De plus, Lange, en examinant les cultures virulentées de Kolle et de ses collaborateurs, a dû se convaincre qu'il s'agissait d'un souillement de la part de bacilles du type humain.

L'épisode effrayable qui s'est vérifié à Lubeck et que l'on connaît trop bien, a rallumé chez quelques uns la crainte de la possibilité d'une révirulentation du B. C. G. et a donné lieu à une opposition contre la vaccination pratiquée à l'aide des vaccins vivants. Mais heureusement, après les investigations des Autorités allemandes, inspirées par une sincérité louable, nous savons aujourd'hui, avec une certitude absolue, que dans la tragédie de Lubeck le B.C.G. est hors cause et que le désastre fut déterminé par l'emploi de cultures virulentes.

Puisque quelqu'un a voulu avancer l'opinion que le B.C.G. employé à Lubeck s'était peut-être virulenté par le fait que le Dr. Deycke, dans le but d'en éliminer toute contamination l'avait soumis au traitement par l'acide sulfurique (5%) et cultivé, ensuite, sur milieu à l'oeuf suivant

---

([420]) Deutsche med. Woch., 1921, 937.
([421]) Klin. Woch., 1923, 1504.
([422]) Zeitschr. Hyg., vol. 98, 1922, 243.
([423]) Deutsche med. Woch., 1922, 999.
([424]) Deutsche med. Woch., 1922, 350 e 1000.

la méthode de Hohn, M. Saenz ([425]) a institué une série d'expériences à ce propos et a pu démontrer que pas même avec ces traitements on parvenait à modifier l'action biologique du B.C.G.

Le souillement de souches avirulentes comme le B. C. G., par des souches virulentes, peut arriver non seulement à cause de négligences déplorables, mais aussi par suite de quelques unes de ces éventualités exceptionnelles qui peuvent se vérifier de la façon la moins soupçonnée et la plus insidieuse, dans la tecnique microbiologique. En voici un exemple:

Dans notre laboratoire de bactériologie, des cultures de mycètes étaient infestées par des acares du genre *Tarsonemus*, Ces acares tendent, on le sait, à se transporter d'un tube à l'autre, produisant des souillements culturaux. Un jour, en observant une culture de b. bovin Vallée laquelle présentait des moisissures, on y constata la présence des acares, et, au bout d'un mois, on trouva que les autres cultures de bacilles tuberculeux de la collection étaient elles-aussi infestées. Quelques unes de ces cultures appartenaient à des souches avirulentes (B.C.G., èquine Vallée et T. P.). Dans le soupçon que des acares avaient pu transporter des bacilles virulents du type bovin Vallée dans les cultures de souches avirulentes, on pratiqua des inoculations au cobaye en employant ces souches. Les expériences sont encore en cours, mais nous dirons dès à présent qu'un cobaye inoculé moyennant le B.C.G. montre déjà quelque grossissement ganglionnaire suspect. Voilà donc se dessiner la possibilité de souillements entre les différentes souches tuberculeuses, par suite d'infestations dues à des acares.

Un deuxième point fondamental, qui a été sujet de nombreuses discussions, se rapporte à *la valeur réelle prémunisante du B.C.G.*

Comme le but de cette relation n'est pas celui de parler en détails de la vaccination anti-tuberculeuse humaine, nous ométtons toute donnée statistique et toute considération à ce sujet, bornant notre étude aux résultats des investigations expérimentales.

Si nous nous rapportons aux recherches pratiquées sur de petits animaux de laboratoire — cobayes et lapins — nous constatons l'incertitude la plus grande dans les résultats. La plupart des AA. admet que ces petits animaux ne sont pas vaccinables et succombent toujours, si toutefois avec un certain retard en comparaison des témoins. Il y a des AA., comme Remlinger et Bailly ([426]), qui, en s'appuyant sur de nombreuses recherches, affirment même l'inefficacité absolue des essais de vaccination.

La prémunition à l'aide du B. C. G. trouve, au contraire, une base

---

([425]) C. R. Soc. Biol., vol. 106, 1931, pag. 156.
([426]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 1557.

expérimentale très sérieuse et bien large dans les recherches qui ont été faites sur les bovidés. Ce ne sont pas seulement les expériences de Calmette et Guérin [427], poursuivies de 1919 à 1924, qui plaident en faveur de l'apparition, consécutive à l'inoculation sous-cutanée du B. C. G., d'un état manifeste de résistance aux infections expérimentales même graves, accompagné d'un état typique d'allergie de l'organisme (réactivité à la tuberculine); mais il y a encore les expériences de Ascoli [428], de Mello [429] d'Obuschowsky et Pasckowskyi [430], d'Assis et Dupont [431], de Gerlach [432], celles de la Commission de l'Ukraine rapportées par Tzeknovitzer [433] et celles de la Commission d'Ottawa (Canada) rapportées par Rankin [434], les recherches de Richard et Boissière [435] etc. Cet état de résistance est en rapport avec la formation d'un foyer de réaction organique autour des bacilles inoculés et qui persiste, habituellement, pendant 18 mois; moyennant des inoculations successives on peut le prolonger.

Les recherches pratiquées par Wilbert, Kraus et Gerlach, Meyer [436] représentent elles-aussi une bonne documentation à l'appui du pouvoir vaccinant du B.C.G.

Mais si aucun doute ne peut subsister à l'égard de l'action du B. C. G. administré par inoculation, d'autres AA. ont soulevé la question de l'efficacité de son action par suite de l'administration par ingestion, cette voie ayant été indiquée par M. Calmette pour les vaccinations des nouveau-nés. Le B. C. G. pénètre-t-il réellement dans les tissus de l'organisme en quantité suffisante pour le prémunir? La prémunition dure-t-elle lontemps?

En laissant de côté, même pour cette question, tout critérium statistique, nous allons voir maintenant ce que la pathologie expérimentale peut nous apprendre à cet égard.

L'aptitude à traverser les muqueuses et les barrières lymphatiques de l'arrière-bouche est certainement commune à tout le groupe des mycobactéries.

En ce qui concerne les bacilles tuberculeux virulents, le fait est indiscutable même si nous nous basons sur les simples observations épidémiologiques; bien plus, il a eu sa démonstration expérimentale dans les faits de Lubeck. Nous pouvons donc nous dispenser de citer les

---

[427] « L'infection bacillaire etc. ». Masson, 1926.
[428] Bull. Acad. Méd., vol. 101, 1929, 283.
[429] Ann. Staz. Sperim. Mal. Inf. del bestiame, Torino 1927.
[430] Centr. Bakt., I, Ref., vol. 91, 1928, 230.
[431] Ann. Inst. Past., 1928, 1480.
[432] Loc. cit.
[433] Loc. cit.
[434] Ann. Inst. Past., 1929, 878.
[435] Citati da *Calmette*.
[436] V. *Calmette*, Revue Phtisiol., 1930, 338.

recherches expérimentales qui ont été pratiquées sur les animaux à ce sujet.

En ce qui concerne les bacilles para-tuberculeux, bacille de la fléole, nous avons les recherches de Pampana ([437]), de Boquet et Saenz ([438]) et de Nelis ([439]) démontrant l'absorption de ces microbes par la voie trachéale et par la voie tonsillaire.

Quant au B. C. G., son passage dans l'organisme, par suite de l'administration *per os*, a été constaté non seulement par Valtis et Saenz ([440]) dans le laboratoire de Calmette, mais aussi par Nelis ([441]), Piazecka-Zeyland ([442]), Remlinger et Bailly ([443]), etc. En outre, Zeyland et Piazecka-Zeyland ([444]) ont pu démontrer la presence du B. C. G. dans les ganglions mésentériques d'enfants vaccinés *per os* et morts successivement pour des causes intercurrentes.

Toutefois, en pratiquant la réaction tuberculinique aux enfants vaccinés *per os*, on a observé — et Calmette, lui-même, l'a reconnu — que non tous les sujets vaccinés réagissent. Pour cela, quelques AA. ont été amenés à penser que le passage du B.C.G. et, par conséquent, la prémunition, ne s'effectue pas systématiquement chez tous les enfants traités. Calmette ne donne pas trop de valeur à cette remarque, et affirme, en se basant sur des expériences faites par inoculations aux bovidés, qu'une quantité modique de bacilles pénétrés dans l'organisme peut prémunir, même en ne donnant pas lieu à la réactivité à la tuberculine. Pittaluga et Gargia ([444*bis*]), en étudiant les formules du sang d'enfants vaccinés *per os* avec le B.C.G., ont en effet constamment révélé de la monocytose et de la lymphocytose, ce qui prouve que l'absorption du B.C.G. par la voie orale a effectivement lieu. Il faut reconnaître cependant que ce fait exige une étude ultérieure, particulièrement à l'égard de la durée de la prémunition, étude qui demande un nouvel examen des voies d'administration, surtout à la suite des communications de Weill-Hallé et Turpin ([445]) qui ont démontré la possibilité d'employer, pour l'homme, les inoculations sous-cutanées de B.C.G.

---

([437]) Annali d'Igiene, 1929, XXXIX.
([438]) C. R. Soc. Biol., vol. 104, 1930, 1182.
([439]) C. R. Soc. Biol., 1929, 3°, 585.
([440]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 1841 e vol. 101, 1929, 271.
([441]) C. R. Soc. Biol., vol. 104, 1930, 1187 e vol. 105, 1930, 188.
([442]) C. R. Soc. Biol., vol. 103, 1930, 819.
([443]) Ann. Inst. Past., 1930, 44.
([444]) Ann. Inst. Past., 1928, 61.
([444 *bis*]) Ann. Inst. Pasteur, 1929, pag. 1233.
([445]) Bull. Acad. Méd., 1927, pag. 126 e 1928, pag. 10; Bull. de la Soc. Méd. des Hôp., 23 marzo 1928.

*La souche équine avirulente de Vallée* ([446]).

H. Vallée est un précurseur de la vaccination antituberculeuse à l'aide des vaccins vivants; c'est à lui que revient le mérite d'avoir porté, le premier, son attention sur la perte spontanée de la virulence du b. tuberculeux et d'avoir employé des bacilles tuberculeux, devenus avirulents naturellement, pour la vaccination préventive des bovidés.

Parmi les différentes souches tuberculeuses étudiées par Vallée, la plus importante et la plus connue c'est une souche équine isolée vers 1898 par Nocard, dans un cas de tuberculose abdominale du cheval. Aujourd'hui cette souche est connue sous le nom de « *équine avirulente de Vallée* » et, pour brièveté, nous la désignerons par les lettres initiales E. A. V.

L'E. A. V., initiellement virulente et fort apte à produire de la tuberculine, ne tarda pas à diminuer son pouvoir pathogène, de sorte qu'en 1904 on constata que la souche était presque inoffensive pour le cobaye. En effet, des recherches pratiquées pendant cette année-lá par Vallée, il ressort que l'inoculation d'un milligramme de culture, injecté sous la peau, ne provoque qu'une lésion locale et une adénite des ganglions tributaires; ces lésions regressent spontanément au bout de plusieurs semaines. Seulement des doses dépassant les 8-10 milligrammes sont à même de déterminer des lésions envahissantes.

Toujours en 1904, Vallée pratiqua l'inoculation intra-veineuse de 100 mgr. de bacilles E. A. V. chez une vache brétonne, sans provoquer cependant aucune évolution pathogène. L'autopsie de cet animal ne mit en évidence aucune trace de lésions tuberculeuses, ni de bacilles tuberculeux dans les ganglions pulmonaires ou dans ceux du mediastin. Cette inaptitude à exercer une action pathogène chez les bovidés a aussi été démontrée par nombre d'inoculations (800 bovidés) pratiquées dans les régions rurales.

A partir de 1904 jusqu'à présent, l'E. A. V. a été entretenue moyennant des répiquages pratiqués tous les mois sur pomme de terre glycérinée et il en est résulté que sa virulence s'est encore plus atténuée. De même, le pouvoir de former de la tuberculine s'est épuisé et cela contrairement à ce qui est arrivé pour les bacilles de Borrel et collaborateurs (V. plus loin).

Au cours d'expériences instituées en 1926 et 1927, Vallée a pu constater que des doses de 10-50 mgr. résultaient parfaitement indiffé–

---

([446]) Ann. Inst. Past., 1909; Revue Gén. de Méd. Vétér., 1924; C. R. Acad. Sc., vol. 178, 1924, pag. 152; Bull. Acad. Méd., vol. 100, 1928, 1016.

rentes pour les cobayes et les lapins; 10-20 mgr. injectés sous la peau du cobaye, et 10-50 mgr. inoculés dans la veine marginale de l'oreille du lapin, produisaient seulement des réactions transitoires et des troubles minimes, ce qui faisait craindre que la permanence de l'E. A. V. dans l'organisme des animaux inoculés fût tellement courte à ne pouvoir déterminer un état durable de prémunition.

Mais alors, Vallée imagina un artifice ingénieux dans le but d'obtenir la permanence de l'E. A. V. dans l'organisme, malgré son avirulence complète; cet artifice consistait dans l'inoculation de l'E. A. V. émulsionné en huile de vaseline additionné de sable porphyrisé stérile, c'est-à-dire dans un excipent non absorbable et déterminant un foyer persistant. Vallée constata ainsi que, tandis que 50 mgr. de E. A. V., émulsionnés en solution physiologique ne laissaient, au bout de quelques mois aucune trace chez les bovidés inoculés, 20 mgr. de E. A. V. émulsionnés en 2 cmc. d'huile de vaseline additionné de 20 mgr. de sable, provoquaient dans le tissu sous-cutané la formation d'une lésion très durable.

L'autopsie des bovidés traités de la sorte, pratiquée même à distance de deux ou trois années de l'inoculation, met en évidence une masse fibro-caséeuse à dimensions variables et pouvant atteindre la grosseur d'un poing. On n'observe aucune autre lésion tuberculeuse dans l'organisme ou dans les ganglions tributaires du tissu sous-cutané où l'on a pratiqué la vaccination.

Dans la masse fibro-caséeuse qui s'est formée, on constate la présence d'aréoles renfermant du pus caséeux, lesquelles ne sont pas strictement limitées au niveau de l'inoculation, mais se répandent un peu dans le voisinage immédiat. Dans le pus caséeux il y des bacilles acido-résistants, nombreux, absolument inoffensifs pour le cobaye, mais assurément vivants, puisqu'ils sont encore cultivables.

La vaccination moyennant l'E. A. V. en excipient non absorbable a été pratiquée par Vallée dans plus de 2000 bovidés et cet Auteur n'a jamais observé aucun accident fâcheux, même le plus insignifiant. L'efficacité de cette vaccination a été démontrée par voie expérimentale, avec des épreuves faites sur les bovidés.

En effet, les bovidés traités moyennant l'E. A. V. en excipient non absorbable ont été soumis, après deux années, à une inoculation d'épreuve d'une gravité extrême, pratiquée par voie intraveineuse, qui tuait rapidement les témoins. Il n'ont présenté aucun phénomène morbide sérieux et leur autopsie, effectuée plusieurs mois après l'infection expérimentale, a montré l'absence de toute lésion relevable d'une tuberculose généralisée et progressive.

En tirant ses conclusions, Vallée affirme que sa souche équine a perdu la virulence d'une façon spontanée, complète et stable, et que émul-

sionnée en excipient non absorbable est très appropriée pour déterminer chez les bovidés une résistance solide et de longue durée.

Parmi les travaux qui ont paru à propos des bacilles tuberculeux avirulents et de la vaccination des bovidés, ceux de Vallée offrent le plus d'intérêt et sont dignes d'attirer toute l'attention des savants.

*Les souches humaines, bovines et aviaires non virulentes de Raw.*

Raw (447) a pu suivre, pendant 18 années, le sort des souches suivantes: une souche humaine qu'il avait reçue de Koch en 1906; une souche bovine que Calmette lui avait donnée, et une souche aviaire provenant de Bang; elles ont été toutes entretenues moyennant des repiquages faits chaque mois sur des milieux glycérinés ordinaires.

L'A. n'a observé rien de particulier jusqu'au 94ème passage, mais ensuite il a constaté une telle attenuation de la virulence que, inoculant les souches aux animaux sensibles (neuf ans après le début de ses observations), il constata qu'elles s'étaient incapables de reproduire la tuberculose. Les animaux inoculés démeuraient toujours vivants et en bonne santé et quand on les sacrifiait — ce qui arrivait beaucoup de temps après l'inoculation — on ne constatait l'existence d'aucune trace de tuberculose.

Ces souches se sont même montrées atoxiques.

L'A. utilisait ces souches avirulentes à l'état vivant pour les traitements prophylactiques des enfant exposés à l'infection tuberculeuse; il leur pratiquait six inoculations de bacilles, à des doses croissantes de 0, mgr. 001 jusqu'à 0, mgr. 006; ces doses ont été toujours bien supportées et n'ont donné lieu à aucun inconvénient.

Les épreuves expérimentales instituées toutes les années dans le but d'essayer le pouvoir pathogène de ces souches, ont démontré que ces dernières avaient atteint un degré fixe d'attenuation.

*La souche « R » de Trudeau.*

M. Krause (448) rapporte que le Dr. Trudeau isola en 1891 une souche de b. tuberculeux humain, obtenue moyennant le passage chez le lapin, de produits provenant d'un cas de tuberculose miliaire. A vrai dire, il semble un peu étrange de rattacher au type humain une souche obtenue par suite de l'inoculation au lapin, mais nous n'avons pas trouvé des éléments qui nous renseignent clairement sur ce point.

Cette souche, dénommée « R » et connue aussi sous le nom de bacille

---

(447) Brit. med. Journal, 1921, I, 594; The Lancet, 1919, 376.
(448) Americ. Rev. Tub., 1919-20, vol. 3, pag. 1; e 1926, vol. 4, pag. 211.

du laboratoire de Saranac, manifesta au moment de son isolement et encore après un certain delai de temps, la virulence qu'ont habituellement les bacilles tuberculeux; mais après deux à trois années de passages successifs sur les milieux culturaux ordinaires, elle montra d'avoir subi une atténuation considérable, dans le sens de n'être plus apte à conférer la tuberculose généralisée, se bornant par contre à provoquer des lesions locales qui aboutissaient à la guérison.

Successivement le degré d'atténuation n'augmenta plus, mais il démeura fixe, à travers des dizaines d'années (les pubblications de Krause remontent à 1919 et à 1926, c'est-à-dire qu'elles ont paru 25 et 32 ans après la date de l'atténuation).

La caractéristique de la souche « R » consiste en ce que lorsqu'on se sert d'elle pour pratiquer au cobaye une inoculation sous-cutanée, même à dose élevée (non précisée), on ne provoque jamais la mort de l'animal ni une tuberculose généralisée progressive. Les ganglions tributaires de la région inoculée grossissent habituellement pendant les premières trois semaines, puis ils démeurent stationnaires pour quelque temps, pour revenir enfin à l'état normal. Lorsqu'on sacrifie les cobayes inoculés, après un certain délai de temps à partir de l'inoculation (jusqu'à deux ans), on constate qu'ils ne présentent aucune lésion.

Krause rapporte que Trudeau, Baldwin et lui même ont essayé plusieurs fois de redonner la virulence à la souche « R » à l'aide de passages en série dans le cobaye, mais ces essai n'ont jamais réussi.

C'est pourquoi M. Krause fait remarquer que le « R » est un bacille tuberculeux qui a atteint une atténuation fixe, laquelle ne tend ni à augmenter vers l'avirulence complète par suite de repiquages ultérieurs sur milieux artificiels, ni à reprendre la virulence primitive par suite de passages en série dans les animaux. L'A. est enclin à penser que cette propriété d'atteindre un degré fixe d'atténuation est une caractèristique générale du b. tuberculeux.

Krause et d'autres AA., comme par ex. Arnstein et Steinbach ([449]) ont pratiqué des tentatives de vaccination chez le cobaye, moyennant le « R »; ils ont obtenu des résultats assez satisfaisants, mais il ne nous résulte pas que des expériences chez les bovidés aient été affectuées.

*La souche B. B. de Borrel, Boez et De-Coulon.*

Borrel, Boez et De-Coulon ([450]), en étudiant 25 souches de bacilles tuberculeux d'origine différente, ont pu remarquer que quelques unes d'entre elles n'étaient plus à même de déterminer une tuberculose pro-

([449]) Americ. Rev. Tub , vol. 17, 1928, 93.
([450]) Ann. Inst. Past., 1923, 1013.

gressive par inoculation sous-cutanée, à la dose d'un décimilligramme; l'inoculation provoquait simplement un petit abcès local, qui se réabsorbait ou s'éliminait sans être jamais suivi de généralisation. Les souches en question étaient marquée comme suit: bovin Behring, bovin Marmorek, cheval I. P., humain H. 1036, et bovin B. B. isolé en 1910 par Burnet.

Cependant, à l'exception de la souche de Burnet, les autres étaient encore capable de determiner une tuberculose progressive et généralisée, lorsqu'elles étaient inoculées à de doses très élevées; bien plus, leur état d'atténuation ne s'est jamais démontré fixe, car, moyennant quelques passages à travers les animaux, on a pu exalter leur virulence. On doit donc les ranger parmi les souches tuberculeuses atténuées qu'on rencontre avec une grande facilité dans les collections bactériologiques et qui peuvent éveiller de l'intérêt car, même en des quantités très fortes, (0,1 milligrammes) elles ne parviennent pas à exercer une action pathogène progressive.

L'étude biologique de la souche bovine B. B. qui resulta définitivement avirulente, fut encore plus intéressante.

Moyennant l'inoculation sous-cutanée chez le cobaye, même à une dose extrèmement élevée (10 milligrammes) cette souche donne lieu à un simple abcès local, qui regressent pendant le deuxième mois. Les cobayes traités de la sorte, ne présentent des traces de tuberculose diffuse pas même lorsqu'ils sont sacrifiés un an après l'inoculation.

Moyennant l'inoculation intra-péritonéale chez le cobaye, le B. B. détermine la formation de nodules de l'épiploon, qui ont une tendance à regresser. Si la dose inoculée est élevée (5 mgr.), la persistance de ces nodules peut être très longue et leur regression peut se vérifier au bout d'un an. Mais dans tout cas il n'y a aucune trace de tuberculose généralisée.

L'inoculation intracardiaque du B. B. au cobaye, ne provoque aucune lésion, pourvu qu'il s'agit de doses faibles; si au contraire on inocule un milligramme de bacilles, on observe une micropolyadénite sans aucune trace de caséification, et avec retour à l'état normal au bout de 40-50 jours. Si on sacrifie les animaux après deux mois, on peut observer que leur rate est hypertrophiée et qu'il y a quelques nodules viscéraux. Mais ces lésions ne sont jamais progressives et les cobayes laissés en vie pour un temps plus long, démeurent en bonne santé; si on les sacrifie 300 jours après l'infection, ils ne présentent aucune lésion.

Le B. B. se montre également avirulent pour le lapin. Les essais de virulentation pratiqués moyennant des passages chez le cobaye, n'ont pas donné à M. Borrel et à ses collaborateurs des résultats, de sorte que ces AA. ont conclus avec raison que le B. B. est une souche bovine devenue définitivement avirulente.

En ce qui concerne la production de la tuberculine, le B. B. se montre très actif: Borrel et ses collaborateurs, en comparant le pouvoir toxique des corps bacillaires et des tuberculines de différentes souches, ont pu constater qu'il n'existe aucune relation entre virulence et toxicité; ils ont trouvé des souches virulentes et peu toxiques, tandis qu'ils ont remarqué que entre les souches diverses soumises à l'examen, la souche avirulente de B. B. était la plus toxique.

Or, ainsi que les AA. mêmes l'affirment, ces observations devaient aboutir, naturellement, à un essai de vaccination. Malheureusement les épreuves de vaccination n'ont été pratiquées que sur le cobaye; mais cet animal — comme nous l'avons déjà remarqué à propos du B.C.G. — difficilement peut acquerir une prémunition absolue. En effet, les cobayes de Borrel et des ses collaborateurs ont eu le même sort qui est réservé à tous les cobayes soumis à des épreuves vaccinales; en comparaison des témoins, ils ont suvecu pour une période de temps double et même triple, mais à la fin ils sont morts de tuberculose. Des expériences parallèles faites avec le B. C. G. par Borrel et ses collaborateurs, ont donné des résultats presque identiques.

Il est vraiment à regretter que les belles recherches de Borrel, Boez et De-Coulon n'aient pas été poursuivies chez les bovidés, les seuls animaux qui puissent nous donner la mesure réelle de la prémunition expérimentale.

*La souche bovine T. B.* 18 *et la souche humaine de Uhlenhuth* ([451]).

Uhlenhuth appartient à ces AA. qui sont convaincus que pour déterminer un état de résistance contre la tuberculose, les bacilles morts sont absolument impropres, et qu'il faut provoquer un état allergique par le traitement à l'aide de bacilles vivants. C'est pourquoi il a essayé de vacciner les animaux moyennant des bacilles vivants mais privés toutefois du pouvoir pathogène, et il a utilisé, dans ce but, deux souches: l'une humaine, et l'autre bovine.

La souche humaine remontait à 1902. Au moment de son isolement elle était virulente et, inoculée au cobaye à la dose de un mgr., elle produisait la tuberculose généralisée. En 1923 cette souche avait tellement perdu sa virulence que, lorsqu'on l'inoculait aux cobayes, par voie sous cutanée, en des quantités de culture variables entre un milligramme et un gramme, on ne provoquait que des grossissements ganglionnaires ayant tendance à la regression, et qui se manifestaient seulement chez une partie des animaux; les cobayes tués après un an ou un an et demi à partir de l'inoculation, ne montraient aucune lésion.

---

([451]) Deutsche med. Woch., 1923, pag. 1197; 1927, pag. 1807 (in collab. con *Müller* e *Gretjmann*); 1929, pag. 1535 (in collab. con *Müller* e *Hillenbrandt*).

De grandes quantités de cette souche, et précisément 1-2 gr. de bacilles, inoculées aux bovidés par voie intra-péritonéale, étaient parfaitement tolérées.

Des essais de vaccination pratiqués chez les bovidés, moyennant l'introduction de 1-2 gr. de bacilles dans le péritoine, ont protégé les animaux contre l'inoculation intraveineuse de 10 mgr. de culture virulente, mais ils n'ont pu les protéger contre l'infection naturelle contractée à cause du séjour dans une étable infectée.

Des études plus vastes ont été faites avec une souche bovine étiquetée T. B. 18. Cette souche avait été isolée par Behring, en 1902, d'un cas de tuberculose médiastinale glandulaire du veau, et après un passage à travers le cobaye avait été entretenue pendant 21 années, par la culture sur miliex ordinaires. Des anciens protocoles d'expérience il ressort qu'au moment de l'isolement cette souche était pathogène pour le cobaye et pour les bovidés. En effet un veau avait succombé en 6 semaines à une dose de 0 gr. 025 de culture développée sur sérum; mais aussi 1 mgr. était suffisant pour déterminer une tuberculose évolutive.

Lorsque cette souche fut nouvellement examinée entre 1921 et 1923, elle montra una virulence modérée pour le cobaye (lésions surtout ganglionnaires), une virulence faible pour les lapins et presque nulle pour les bovidés. Des cobayes et des lapins inoculés moyennant des doses élevées sont morts de tuberculose, mais un autre lot d'animaux, après avoir présenté des grossissements ganglionnaires, a échappé à la mort. Lorsqu'ils ont été sacrifiés après une année, ils n'ont montré aucune lésion. Quant aux bovidés, ils ne succombèrent ni à des doses même élevées de culture (0, gr. 5-2 gr.) introduites dans leur péritoine, ni à 100 mgr. introduits par voie intraveineuse; lorsqu'après plusieurs mois on les tua, on n'observa rien d'anormal dans leurs organes.

Successivement, en 1929, Uhlenhuth a affirmé, dans une de ses dernières contributions, que le T. B. 81 inoculé aux cobayes par voie souscutanée même à la dose de 10 mgr., ne parvient pas à tuer les animaux et lorsqu'on sacrifie ces derniers au bout de 9 mois, on ne constate aucun signe de tuberculose.

La perte de virulence du T. B. 18 a été constaté aussi par Fuijoka et Fuchs [452]; ces AA., inoculant la souche dans l'oeil des animaux, ont observé seulement un processus localisé et ayant tendance à regresser, analoguement à celui qui est déterminé par le B. C. G.

Quant aux caractères culturaux, le T. B. 18 se développe d'une façon luxuriante en bouillon glycériné, avec l'aspect d'une souche humaine.

---

[452] Zeitschr. Immun. forsch., vol. 60, 1929, pag. 121.

Uhlenhuth et quelques uns de ses collaborateurs ont pratiqué moyennant le T. B. 18, des tentatives de vaccination chez les bovidés (inoculation par la voie intrapéritonéale); en un premier temps ils sont parvenus à obtenir une nette résistance vis-à-vis de l'infection naturelle (cohabitation dans une étable infectée), mais non pas contre l'infection artificielle, déterminée à l'aide de l'inoculation intraveineuse de 20 mgr. de culture virulente.

Plus tard (1929) l'A. a voulu étendre ses recherches en les comparant à des cas de bovidés traités moyennant le B.C.G.; il a donc utilisé, dans ce but, un lot de veaux vaccinés sous la peau à l'aide de 100 mgr. de B.C.G., un autre lot de veaux vaccinés par la même voie, avec le T. B. 18, et enfin un dernier lot vacciné par la voie intrapéritonéale moyennant 1 gr. de T. B. 18. Il a soumis tous ces animaux à l'infection naturelle (vie en commun), et il a constaté qu'ils on contracté l'infection dans la proportion de deux tiers, tandis qu'un tiers seulement des animaux appartenant à chaque lot démeura sain. Quant aux témoins, ils furent tous atteints de la tuberculose.

Uhlenhuth se montre donc sceptique sur la valeur pratique de la vaccination faite à l'aide de bacille devenus trop avirulents. Les contributions de cet A. et surtout celles qui s'appuient sur la comparaison avec la B. C.G., ont donné lieu à une polémique entre l'A. et Calmette et Guérin [453].

Pour ce qui se rapporte au pouvoir toxique, Uhlenhuth a constaté que le T. B. 18 a continué, malgré son atténuation, à produire une tuberculine susceptible d'être employée dans la pratique.

Il est à regretter que les deux souches de Uhlenhuth n'aient pas été soumises à des recherches systématiques aptes à déterminer la fixité de l'état d'atténuation auquel elles sont parvenues; car, en effet, ce qui intéresse le plus dans ces souches atténuées ou avirulentes, ce n'est pas le degré plus ou moins complet d'avirulence qu'elles ont atteint, mais plutôt la fixité de ce degré et l'impossibilité d'un retour à la virulence.

*La souche de Herrold et Saelhof* [454].

Il s'agirait d'une souche tuberculeuse (le type auquel elle appartient n'est pas mieux spécifié) originairement provenant du laboratoire de R. Koch (1888) et reçue, par les AA., par l'obligeance du Dr. F. G. Novy de Ann Arbor (Mich.). Les AA. affirment que cette souche, originairement, virulente, a perdu tout pouvoir pathogène.

---

(453) Deutsche med. Woch., 1929, pag. 2173 e 2175.
(454) Journ. Amer. Med. Ass., vol. 86, 1926, 747.

Or, on peut élever les doutes les plus légitimes sur la souche en question, et penser à un souillement éventuel ou même à un échange de cultures, car les AA. informent qu'elle pousse d'une façon fort luxuriante sur milieux ordinaires et que ses filtrats donnent une cuti-réaction chez les sujets sains et non pas chez ceux qui présentent une tuberculose active.

*Les souches de Karwacki.*

La plupart des chercheurs qui se sont occupés des modifications spontanées de la virulence du b. tuberculeux, sont d'accord à reconnaître que les caractères morphologiques et culturaux gardent une fixité remarquable. Mais il y a des AA. comme Ferran en Espagne, Vaudremer en France, Sanfelice en Italie, lesquels admettent dans le b. tuberculeux de grandes modifications morphologiques et culturales, ainsi qu'un polymorphisme surprenant.

Karwacki appartient au groupe de ces derniers AA., car il affirme que le saprophytisme entrîne les bacilles tuberculeux à acquérir tous les caractères des bacilles para-tuberculeux, jusqu'à la coloration orange et au développement luxuriant en 24-48 heures sur les milieux ordinaires ([455]). Il nous informe encore que les cultures de bacilles tuberculeux, abandonnées pendant 10 ans et complètement desséchées, malgré la protection d'un capuchon de caoutchouc, étaient encore vivantes, mais elles avaient perdu l'acido-résistance et s'étaient transformées en « *streptothrix* » ([456]).

Ces résultats qu'on pourrait expliquer très bien comme des souillements culturaux, n'intéressent pas notre revue, qui vise essentiellement à l'étude des véritables souches tuberculeuses avirulentes, c'est-à-dire de ces souches qui, tout en gardant les caractéristiques morphologiques et culturales fondamentales du b. tuberculeux, ont changé seulement en ce qui concerne leur pouvoir pathogène.

Mais nous venons de citer Karwacki, car cet A. n'a pas seulement relaté les changements en question, mais il a communiqué en outre de posseder quelques souches qu'il considère comme incomplètement saprophytisées et qui, tout en poussant seulement sur des milieux appropriés pour le b. tuberculeux et se développant lentement, sont déjà devenues inoffensives pour le cobaye.

Les renseignements de l'A. n'offrent pas d'autres détails et il est donc impossibles de se former une opinion exacte de la valeur de ses observations.

---

([455]) C. R. Soc. Biol., vol. 100, 1929, 1152.
([456]) C. R. Soc. Biol., vol. 99, 1928, 1150.

*La souche bovine N. 3 de Wischnewsky* (457).

Il a été impossible de consulter directement l'étude originale de cet A. On a pu seulement apprendre d'un résumé (458), que l'A., au cours d'une étude sur le B.C.G., a étendu comparativement ses recherches à une souche marquée « *Bovine N. 3* ». Cette souche aurait des propriétés tout à fait analogues à celles du B.C.G. L'A. a remarqué notamment que les passages en série n'arrivent pas à redonner la virulence à sa souche, laquelle, lors de son inculation aux bovidés, exerce une action protectrice, tandis que les vaccinations essayées chez les cobayes et les lapins n'auraient qu'une efficacité modérée.

*La souche humaine de Maggiora et Ilvento* (459).

On l'a définie « une souche tuberculeuse de provenance humaine, entretenue pendant huit mois par des repiquages successifs sur milieu de *Lubenau* ».

Les inoculations sous-cutanées ou intra-dermiques, de quantités de culture (imprécisées par les AA.) donnent lieu à une lésion locale non progressive, susceptible de guérison, et à une polyadénie qui régresse elle-aussi; les ganglions lymphatiques péritrachéaux sont notamment atteints. Les inoculations intrapéritonéales ont amené, une fois, la mort du cobaye, en 13 jours, par suite de granulie aiguë, tandis que deux autres cobayes les ont tolérées bien sans aucune manifestation consécutive de tuberculose progressive.

Les AA. concluent donc pour la possibilité d'atténuations spontanées du b. tuberculeux, qui peut devenir capable de déterminer seulement des symptômes légers et des infections à l'état latent.

On n'a pas encore fait des expériences visant à établir si la souche est virulentable par des passages en série chez les cobayes.

*La souche humaine T. P.* (*tuberculeux Puntoni*).

Cette souche fait partie, depuis longtemps, de la collection bactériologique de l'Institut d'Hygiène de Rome, en qualité de b. tuberculeux humain, mais sa dérivation n'est pas mieux précisée. En 1919 elle était encore virulente et déterminait chez le cobaye une tuberculose généralisée, à évolution lente. Consécutivement à la conservation de la souche

---

(457) Woprosy Tuberkulosa, 1929, n. 2-3.
(458) Centr. Bakt., I, Ref., vol. 98, pag. 23.
(459) Riv. di Patol. e Clin. della Tub., 1930, 83.

sur des milieux glycérinés ordinaires, sa virulence est diminuée, et en 1926 on a constaté que l'inoculation sous-cutanée chez le cobaye provoquait seulement des lésions locales susceptibles de guérison, sans tendance à la progression.

Un comportement analogue a été observé pour la même souche T. P. entretenue sur *Lubenau*, dans la collection des Laboratoires Centraux de la Sainté Publique, de sorte qu'on doit écarter toute erreur due à des échanges éventuels de cultures.

De l'étude systématique poursuivie par Puntoni et Sabatucci [460] sur cette souche, il ressort que l'inoculation sous-cutanée au cobaye (cuisse) de doses atteignant même les 10 mgr. de bacilles provenant d'une culture sur pomme de terre glycérinée, produit un abcès local tendant à la guérison sans laisser aucune trace ni d'engorgements ganglionnaires, ni de tuberculose généralisée (autopsies pratiquées entre 1 et 7 mois). Le pus de l'abcès est jaune, épais et riche en bacilles acido-résistants.

En inoculant le T. P. dans le péritoine du cobaye à de doses jusqu'à 5 mgr. de bacilles, on peut déterminer parfois, si les cultures sont trop jeunes (deux semaines), la mort de l'animal par granulie viscérale aiguë, accompagnée d'un épanchement abondant dans les séreuses. Mais si les cobayes survivent, l'infection n'évolue pas progressivement et aboutit à la guérison, ce qui arrive même pour les cobayes inoculés avec des cultures âgées d'un mois (ces cultures ne tuent jamais l'animal).

En sacrifiant les cobayes en série, on a pu établir qu'il se forme, au début, sur la surface des viscères abdominaux, des nodules jaunâtres sous-péritonéaux. On observe également une légère tuméfaction des ganglions des régions: sacrale, rétro-péritonéale et rétro-sternale, mais sans caséification. L'épiploon est enroulé sur soi-même de façon à constituer un gros cordon parsémé de nodules gris. Dans les nodules localisé sur la surface des organes et dans l'épiploon on constate la présence de nombreux bacilles acido-résistants, qui manquent, au contraire, dans les ganglions lymphatiques.

Un mois environ après l'inoculation, les nodules localisés sur le surface des viscères tendent à regresser, les ganglions lymphatiques redeviennent normaux, tandis que l'épiploon démeure enroulé et dans son épaisseur on constate la formation de nombreux nodules jaunes, aux dimensions d'un pois chiche jusqu'à la tête d'un épingle; le contenu de ces nodules est purulent avec de nombreux bacilles acido-résistants. L'ensemble de ces nodules se dispose en chapelet le long de la grande courbure de l'estomac.

Dans une troisième phase, les nodules épiploïques tendent eux-aussi

---

[460] C. R. Soc. Biol., vol. 104, 1930, 1165; Annali d'Igiene, 1930, fasc. 7.

à disparaître; si l'on a inoculé de petites doses, toutes les manifestations disparaissent en 7 a 8 mois et a lieu une *restitutio ad integrum* complète; mais si l'inoculation a été plus abondante, on peut encore trouver des nodules au bout de 12 mois.

Actuellement sont en cours des recherches (Puntoni et Sabatucci) sur la même souche, inoculée par voie intracardiaque chez le cobaye et intraveineuse chez le lapin. Jusqu'à présent on n'a pu jamais constater les signes d'une tuberculose progressive. Chez le cobaye la caractéristique principale se traduirait tout d'abord par un grossissement énorme de la rate, et ensuite par une diminution graduelle du même organe. Dans le lapin l'inoculation intraveineuse de doses élevées donnerait lieu à un état cachectique, probablement dû à intoxication, car on n'observe jamais des lésions tuberculeuses évolutives.

Des recherches sur les poulets sont également en cours (Puntoni et Luzzatto-Fegiz); les inoculations pratiquées par voie intraveineuse et sous-cutanée mettent en évidence la non virulence du T. P. pour les oiseaux.

Les cobayes inoculés par voie intra-péritonéale à l'aide du T. P. réagissent à la tuberculine (Luzzatto-Fegiz) et maintenant on fait des recherches pour établir si le T. P. forme une tubercoline active.

Il paraît que l'atténuation du T. P. soit absolument fixe. Si, après avoir prélevé du pus de l'épiploon de cobayes inoculés par voie péritonéale moyennant le T. P., et après avoir vérifié la présence de bacilles vivants (cultures), on injecte ce pus à d'autres cobayes, par voie sous-cutanée ou dans le péritoine, les animaux ne présentent aucune lésion pas même locale, de sorte qu'en suivant ce procédé il est impossible de pratiquer des passages en série.

Pour faire des tentatives de virulentation à l'aide de passages en série, il faut intercaler la culture du matériel pathologique (pus) entre un animal et l'autre. Moyennant ce procédé on a initiée une série de passages chez le cobaye et l'on est arrivé au 4ème passage sans observer le moindre signe de virulentation (Puntoni et Sabatucci).

Luzzatto-Fegiz ([461]) a poursuivi une étude histologique des lésions déterminées par le T. P. et il a constaté que les réactions sont, pour la plupart, à type polinucléaire et quoiqu'elles puissent présenter des cellules épithélioïdes et des cellules géantes, elles ne parviennent jamais a constituer des nodules tuberculeux spécifiques. Ces lésions ne tendent jamais à l'évolution progressive, ni à la généralisation par voie lymphatique.

On a pratiqué des tentatives de vaccination chez le cobaye, moyennant le T. P.; or, comme toutes les tentatives de ce genre, elles ont été

---

([461]) C. R. Soc. Biol., vol. 104, 1930, 1167; Annali d'Igiene, 1930, fasc. 9.

presque inconcluantes. Jusqu'à présent, on n'a pas encore eu l'opportunité de faire des essais de vaccination chez les bovidés, les seuls animaux qui puissent fournir una bases expérimentale aux essais de vaccination antituberculeuse.

***

En énumérant les bacilles avirulents qui sont mentionnés dans la littérature, nous avons négligés les nombreuses citations de simples diminutions de la virulence, déterminées par les actions les plus diverses, et plus ou moins réversibles. Nous allons citer, par exemple, le b. de Muggia ([462]) qui, après avoir été atténué à l'aide d'une action chimique (*pantosept*), a acquis la caractéristique d'exercer son action pathogène sur le système glandulaire et sur le testicule, sans déterminer des lésions du foie, de la râte, du poumon, mais provoquant toujours la mort, qui survient après un laps de temps très long. Moyennant 16 passages chez les cobayes, pratiqués pendant deux ans et demi, ce microbe a récupéré sa virulence primitive.

Des souches tuberculeuses de ce genre n'intéressent pas beaucoup par rapport à la vaccination, avant tout parce qu'elles déterminent encore une tuberculose, laquelle évolue tôt ou tard jusqu'à la mort de l'animal, et ensuite parce que le degré d'atténuation qu'elles ont atteint n'est point fixe.

En effet, l'avirulence et la fixité de celle-ci sont deux remarquables caractères que doivent posséder les souches tuberculeuses que l'on veuille utiliser pour les vaccinations.

Le caractère de l'avirulence ne doit pas être conçu d'une manière absolue, car toutes les souches que nous venons de mentionner, provoquent, du moins, des faits locaux de réaction, plus ou moins durables; il doit être donc conçu seulement dans le sens d'un manque d'aptitude à déterminer une tuberculose généralisée et progressive, quelle que ce soit la voie d'inoculation, et aussi dans le sens d'une tendance à la regression et à la guérison des immanquables réactions immédiates qui se manifestent dans les premières semaines successives à l'inoculation. L'absence absolue d'un pouvoir pathogène quelconque serait plutôt un caractère de valeur négative, qui ne déterminerait pas chez l'organisme l'état d'allergie nécessaire pour la prémunition. Calmette s'est préoccupé, en effet, de ne pas augmenter le degré d'avirulence relative, acquis par le B.C.G. et c'est dans ce but qu'il croit nécessaire d'intercaler les cultures sur pomme de terre biliée, avec des cultures sur simple pomme de terre glycérinée.

---

([462]) Giorn. di Batt. ed Immunol., 1927, pag. 137.

En ce qui concerne la fixité du degré d'avirulence acquis par plusieurs souches tuberculeuses dont il est question dans notre étude, nous ne pouvons pas affirmer si elle est absolue ou relative.

Sans doute, cette fixité doit être considérée satisfaisante au point de vue pratique, car le séjour, même très prolongé de ces souches chez les organismes sensibles n'entraîne jamais une virulentation; les passages directs du pus des lésions locales, d'un organisme à l'autre, amènent l'épuisement du processus; les passages en série, même très nombreux, pratiqués en intercalant entre un passage et l'autre la culture de bacilles provenant des matériaux pathologiques, ne déterminent pas l'augmentation de la virulence.

Il est donc évident que la caractéristique de l'atténuation des souches tuberculeuses — soit que cette atténuation dépende d'actions artificielles spéciales comme dans le cas du B.C.G., soit qu'elle se réalise d'une façon spontanée — est représentée par une fixité remarquable, et ne tend point à la réversibilité. Or, ceux qui, partant du fait que la virulence du b. tuberculeux est acquise graduellement par variation, acceptent au sens absolu l'idée que les changements par variation graduelle sont réversibles, croient qu'il ne faut pas se fier beaucoup de ces apprivoisements microbiens. Mais ces considérations ont peu de valeur pratique.

Certainement, si l'on considère que le B. C. G. a démandé 230 passages sur pommes de terre biliée, avant d'atteindre le point de non virulence qu'il possède aujourd'hui, personne ne peut prévoir ce qui arriverait si on avait la constance de pratiquer, à l'aide de cette souche, 230 passages à travers l'organisme du cobaye. Mais si, dans le but d'être rassurés à propos de l'innocuité d'un vaccin, on voulait exiger des épreuves semblables, vraiment excessives, il est probable que la plupart des vaccinations n'existerait pas. On pourrait également suspecter, par exemple, que quelques centaines de passages à travers le chien, puissent conférer de nouveau au virus rabique fixé chez le lapin, les caractéristiques biologiques originelles du virus de rue et, par conséquent, l'on devrait se méfier de l'actuelle innocuité du virus rabique fixe.

Cependant, les caractéristiques de non virulence relative (absence du pouvoir de déterminer une tuberculose progressive) acquise par plusieurs souches tuberculeuses, peuvent être considérées vraiment fixes au point de vue pratique et selon nous ce n'est pas le cas de tenir compte des craintes excessives, surtout par rapport à des souches qui, comme le B.C.G., à la suite de recherches innombrables, sont résulté inoffensives.

Maintenant, si nous voulons tirer quelques autres conclusions de cette étude, nous devons constater avant tout que l'avirulentation stable du b. tuberculeux n'est pas du tout un phénomène exceptionnel. Elle peut se vérifier non seulement à l'aide d'actions particulières (par ex. moyen-

nant la bile comme pour le B. C. G.), mais aussi à cause du simple développement sur des milieux glycérinés ordinaires. Ils est probable que si nous portons notre attention sur plusieurs souches anciennes existant dans les collections bactériologiques de beaucoup d'Instituts scientifiques, nous pourrions constater qu'une grande partie de ces souches se trouvent dans un état d'avirulence fixe.

Peut-être, la connaissance de plusieurs souches tuberculeuses devenues d'une façon stable avirulentes, pourrait-elle amener à des applications avantageuses.

Si l'on pense qu'en général dans la pratique des vaccinations le choix de la souche vaccinante a une grande importance, et que dans presque toutes les espèces bactériennes, à côté de souches fortement immunisantes, on rencontre des souches douées d'un faible pouvoir vaccinal, on peut concevoir comme dans la tuberculose aussi, on puisse constater des différences dans l'action allergique exercée par les diverses souches.

En outre, si l'on a à sa disposition plusieurs souches avirulentes, on pourra instituer des tentatives de vaccinations polyvalentes.

Enfin, la connaissance de souches humaines avirulentes d'une façon stable, peut avoir un intérêt tout à fait particulier, en ce qui concerne la prémunition humaine, puisqu'ils est possible, à l'aide de ces souches bien plus qu'à l'aide de celles bovines, d'atteindre ce degré *maximum* de spécificité, auquel on doit viser pour toutes les réactions allergiques.

---

## PETRAGNANI G. – **" Virus migrants " et " Virus non migrants " à travers les bougies poreuses.**

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

On sait depuis longtemps que certaines bactéries « non filtrantes » à travers les bougies poreuses, peuvent les traverser lorsqu'elles ont été plongées dans un liquide cultural. Ce fait a été même invoqué comme une démonstration des lois physico-chimiques qui règlent les filtrations, car on a crû de voir là dedans, l'épreuve que les germes visibles au microscope sont « non filtrants », seulement parce qu'ils sont attirés par les pores des bougies et non pas parce qu'ils sont plus grands que les pores mêmes, ce qui, par contre, arrive dans les ultra-filtres.

Etant donné qu'à présent, suivant nombre de bactériologues, plusieurs microbes qui sont visibles au microscopes et qui sont susceptibles d'être cultivés *in vitro,* auraient une phase filtrante à travers les bougies poreuses, il m'a semblé qu'une recherche systhématique de l'ap-

titude de migration à travers les bougies poreuses, de tous les microbes que l'on peut cultiver *in vitro*, aurait pu apporter un élément à l'épreuve de filtration sur les mêmes bougies et sur les mêmes milieux culturaux.

C'est pourquoi j'ai préparé les milieux « optima » pour chacun des germes que j'ai voulu étudier; et précisément:

— Bouillon de *Löffler* ayant un Ph de 1,4 pour le *B. prodigiosum*, le *B. Proteus* $X_{19}$, le *staphylococcus aureus*; le mycrocoque de la fièvre ondulante (*Brucei*); le B. de l'avortement des bovidés (*Bang*); le B. du charbon hématique virulent.

— Bouillon de *Löffler* ayant un Ph de 7,8 pour le vibrion cholérique et pour le b. du typhus.

— Bouillon *Martin*, ayant un pH de 8 pour le b. diphtérique.

— Milieu synthétique de *Souton* ayant un pH de 7,2.

— Bouillon de pommes de terre de *Voudremer*, ayant un pH de 7,2 pour le B, de Koch.

— Bouillon de *Löffler* glycériné au 5% ayant un pH de 7,2 pour le B. de Koch.

— Milieu de *Besredka-Valtis* et *Saenz*, ayant un pH de 7,8 pour le B. de Koch.

Le milieu respectif a été réparti, pour chaque germe susmentionné, en deux *Erlenmeyers* et en deux bouteilles à filtration; dans le bras d'aspiration de ces dernières j'avais déjà inséré, moyennant un tube de caoutchouc, une bagne de ver ayant une boule bouchonnée avec de l'ouate. J'ai introduit dans chaque *Erlenmeyer* 200 cmc, de liquide de culture, et j'en ai versé 100 cmc, en chaque bouteille à filtration. Les *Erlenmeyers* avaient la capacité de 250 cmc, et j'ai choisi tous ceux dont les embouchures avaient le même diamètre de celles des bouteilles à filtration.

Sur toutes les bouteilles à filtration renfermant les 100 cmc. de liquide cultural j'ai monté, moyennant un bouchon de caoutchouc foré, tendre, et neuf, les bougies poreuses. Pour chaque germe susmentionné j'ai monté deux bouteilles respectivement avec Chamberland $L_2$ et Chamberland $L_3$. J'avais contrôlé d'abord la porosité de ces bougies, à l'aide de l'*appareil de contrôle*, dont je vais parler plus tard et j'en avais mesuré la perméabilité moyennant de l'eau distillée. Sur les bouteilles qui devaient être employées pour les épreuves sur le b. de *Koch*, j'ai monté des bougies qui, tout en étant jugées appropriées, étaient parmi les plus perméables.

Après les avoir montées sur la bouteille pour obtenir le vide, j'ai fermé l'embouchure de toutes les *bougies*, à l'aide d'un bouchon de gros coton, comme si elles étaient des éprouvettes à bactériologie. En employant des feuilles de papier parcheminé de 20 cm. × 20 cm., j'en ai capuchonné

l'extrémité, qui été déjà fermée par le bouchon, avec le cou de la bouteille, en fixant le papier parcheminé à l'aide de deux liens solides: l'un au niveau du cou de la bougie, immédiatement au dessous de son bord, l'autre au cou de la bouteille.

Enfin j'ai fermé les *Erlenmeyers* contenant chacun les 200 cmc. de liquide, moyennant un bouchon ordinaire de gros coton, avec une tête bien abondante, et un capuchon cylindrique, plutôt ample et profond. de papier parcheminé.

Tous les récipients ont été stérilisés à l'autoclave à 115° pendant une demi-heure.

Pour chaque germe j'ai préparé, ensuite dans le respectif milieu liquide optimal, deux cultures: l'une plutôt vieille, à la fin de son développement, et l'autre très jeune, en pleine croissance. Je les ai homogéinisées moyennant un secouement, après quoi elles ont été réunies dans une grande éprouvette, renfermant une quantité égale de milieu stérile.

Pour le bacille de *Koch* je me suis servi d'enduits recueillis des cultures provenant de mon milieu, et émulsionnées dans les liquides culturaux plus haut mentionnés et préparés pour le bacille même. Afin que la réussite de cette épreuve moyennant le b. tuberculeux ait le plus de chance, j'ai voulu éviter les recherches faites sur une seule souche; c'est pourquoi j'ai réunis les enduits de trois souches de tuberculose humaine, dont je possedais, de chacune, une culture de 40 jours et une de 8 jours de développement à 37° C.

Deux de ces souches et précisément: *Landis* et *Allade*, avaient été déjà transplantées plusieurs fois, en série, dans mon milieu.

La troisième, au contraire, avait été tout récemment isolée d'un crachat.

En outre j'ai filtré sur milieu *Besredka-Valtis*, l'émulsion — en de la solution physiologique — sédimentée pendant trois heures, d'une bouillie obtenue des ganglions caséeux et de la rate d'un cobaye tuberculeux par suite d'inoculation d'un crachat tuberculeux, à laquelle j'ai additionné l'épais enduit-culture de b. de Koch ayant 40 jour de développement, obtenu après avoir ensemencé, sur mon milieu le même crachat inoculé au cobaye.

Grâce à l'aide d'un Assistant, j'ai entrepris la filtration des suspensions déjà préparées. On s'occupait de deux germes à la fois. Un germe pour chaque opérateur, lequel devait donc distribuer, à l'aide d'une manoeuvre aseptique, la suspension bactérienne dans la bougie Chamberland $L_2$ et $L_3$ qui avait été assignée pour chaque suspension.

Ensuite je joignait l'installation pour le vide avec quatre boules à la fois (celles qui correspondaient aux deux germes), après avoir coupé, moyennant le rasoir, le capouchon de papier parchemin au dessous de

son lien avec la bougie, de manière à en mettre dehors, sans la toucher, la bouche fermé par le tampon d'ouate.

Le vide était réglé par le moyen d'une clef appropriée, à 30 cm. de Hg. et moi et mon Assistant, nous pourvoyons, à l'aide d'une pipette, à ajouter, de temps en temps, la suspension bactérienne jusqu'à 20 cmc. pour chaque bougie.

J'avais réalisé dans l'atmosphère ambiante le plus d'amicrobicité possible. Et les embouchures des bougies avaient été ouvertes et fermées avec tous les soins, en faisant beaucoup d'attention pour ne pas les toucher avec les pipettes. On flambait le bord des bougies et on passait à la flamme les tampons, à la fin de chaque filtration; cette dernière avait duré en moyenne, de 5 à 10 minutes pour les 20 cmc.; ce fut seulement pour filtrer la suspension de la bouillie de viscères de cobaye tuberculeux, que la filtration se prolongea pour une demie heure.

* * *

Aussitôt les filtrations finies, j'ai placé à côté de chaque boule alignée sur la table, l'*Erlenmeyer* respectif, contenant les 200 cmc. du même liquide de culture stérile.

J'ai dénoué les liens qui fixaient au cou des boules à filtration les manteaux de papier parcheminé (qui étaient liés aussi aux bougies poreuses au dessus du montage en caoutchouc) et j'en ai élargi les plis, de façon à former comme des parapluies.

Tandis que mon Assistant déboucbonnait l'*Erlenmeyer*, en saisissant la tête du tampon d'ouate à travers le capouchon de papier parcheminé, j'enlevais de la boule à filtration respective, la bougie poreuse (en faisant prise, à travers le manteau de papier parcheminé, sur le tampon de caoutchouc) et je la passais dans l'*Erlenmeyer*; en même temps mon Assistant bouchait la boule à filtration, moyennant le tampon d'ouate et le capouchon qu'on avait ôté de cette dernière. Par cela, la bougie poreuse démeurait plongée pour une longueur de 6-7 cm. environ, dans le liquide de culture de l'*Erlenmeyer* dont la bouche était bien fermée par le montage en caoutchouc et protégée par le manteau de papier parcheminé que j'avais eu la précaution de lier bien solidement à son cou.

Après cela, j'ai porté les boules à filtration et les *Erlenmeyers* avec les bougies, au thermostate à 37° (on a laissé à la température ambiante seulement celles qui renfermaient le *B. prodigiosum*); ensuite je les observais périodiquement afin de constater s'il y avait lieu au développement et dans quel moment.

Pour pratiquer ce premier groupe de recherches, j'ai donc employé

28 boules à filtration et 28 *Erlenmeyers* avec 14 bougies poreuses Chamberland $L_2$ et 14 Chamberland $L_3$. De ces bougies, cinq $L_2$ et cinq $L_3$ ont été employées pour le b. de *Koch*.

## RÉSULTATS.

Parmi toutes les 28 boules à filtration qui avaient reçu, ainsi que nous l'avons vu, 20 cmc. de filtrat chacune, seulement la boule ayant reçu le filtrat sur bougie Chamberland $L_2$ d'une bouillon-culture de V. de choléra, a montré, après 22 heures de séjour à l'étuve, une souillure. Ensuite, cette souillure a été reconnue soit microscopiquement soit sérologiquement, comme un Vibrion du cholera. Les autres boules, tout en ayant été gardées à l'étuve pendant 12 jours, sont restées stériles, y comprise celle qui avait reçu le filtrat du même bouillon-culture de V. du choléra qui avait passé à travers la bougie Chamberland $L_3$.

Lors de la douzième journée j'ai prélevé de chaque boule, où l'on avait filtré les suspensions de b. de *Kock,* 10 cmc. de liquide que j'ai injecté respectivement dans un nombre correspondant de cobayes.

Quant aux filtrats en *Souton,* en bouillon *Vaudremer,* en bouillon glycériné, j'ai injecté 10 cmc, pour chacun d'eux, dans le péritoine d'un cobaye; des quatre filtrats en milieu de *Besredka-Valtis-Saens* j'en ai injecté 6 cmc. pour chacun, dans les aines d'un nombre correspondant de cobayes: 3 cmc. par aine.

Tous les cobayes ont immédiatement ressenti un malaise sérieux et un des animaux injectés moyennant le *Souton,* succomba après 10 heures; les vaisseaux du péritoine et des viscères étaient considérablement injectés, mais on ne parvint à constater la présence d'aucun bacille acido-résistant dans les préparations apprêtées moyennant les ganglions lymphatiques les plus soupçonnés, la râte, et le liquide qui se trouvait encore dans le péritoine.

Les autres cobayes ont été tous sacrifiés lors de l'11ème jours à partir de l'injection. Ils avaient tous perdu quelque peu de leur poids; l'autopsie n'avait mis en évidence aucune lésion suspecte dans les différentes grandes cavités et dans les différents viscères. Seulement trois d'entre eux présentaient des ganglions un peu grossis au niveau des iles du poumon, et un présentait le grossissement du ganglion lombaire.

De chacun des cobayes tués, j'ai apprêté, avec beaucoup de diligence, des préparés moyennant les ganglions lombaires, la rate et les ganglions de la région ilaire du poumon, que j'ai colorés par la méthode de *Ziehl-Neelsen.*

Aucune de ces préparés, que quatre savants s'occupant exprès du

microscope, avaient eu l'occasion d'observer, ne décela la présence d'un seul bacille acido-résistant.

On doit donc en conclure que:

1) Aucun des germes énumérés plus haut (b. *prodigiosum*; b. *proteus*; b. du typhus; b. *Brucei*; b. de *Bang*; b. du charbon hématique; b. de la diphtérie; b. de la tuberculose; *staphylococcus aureus*) possède des éléments filtrants à travers les bougies Chamberland $L_2$ et Chamberland $L_3$ avec une dépression de 30 cmc. de Hg. éléments qui soient aptes, à reproduire, ensuite, dans le milieu de culture optimal, des formes bactériennes modifiant les caractères organoleptyques du *pabulum* et susceptibles d'être observèes au microscope;

2) Lorsque le filtrat de cultures jeunes ou vieilles du b. de *Koch* ou d'une suspension de bouillie d'organes tuberculeux, même après avoir séjourné pendant 12 jours dans les milieux: *Souton*, *Vaudremer*, bouillon glycériné, *Valtis* e *Saenz* à 37° C. est inoculé au cobaye, il ne laisse constater la présence d'aucun bacille acido-résistant dans les cultures mêmes.

* * *

Par contre, dans les 28 *Erlenmeyers* où j'avais placé les bougies poreuses après qu'elles avaient filtré 20 cmc. de suspensions bactérienne, les résultats ont été intéressants:

| Germe contenu à l'intérieur de la bougie poreuse, placée dans l'Erlenmeyer avec le liquide de culture stérile | Nr. de la bougie Chamberland | Nr. des heures écoulées, à partir de l'introduction de la bougie au début du développement bactérique dans l'Erlenmeyer | |
|---|---|---|---|
| B. Prodigiosum | $L_2$ | 33 | |
| Id. Id. | $L_3$ | 160 | |
| B. Proteus × 19 | $L_2$ | 33 | |
| Id. Id. | $L_3$ | 80 | |
| Staphylococcus aureus | $L_2$ | 35 | |
| Id. Id. | $L_3$ | 200 | |
| B. fièvre ondulante (Brucei) | $L_2$ | 100 | |
| Id. Id. | $L_3$ | souillé | |
| B. avortement des bovidés (Bang) | $L_2$ | 160 | |
| Id. Id. | $L_3$ | 160 | |
| B. charbon hématique | $L_2$ | aucun développement | en 40 jours |
| Id. Id. | $L_3$ | Id. | Id. |
| Vibrion cholera asiatique | $L_2$ | 65 | |
| Id. Id. | $L_3$ | 130 | |
| B. Typhus | $L_2$ | 28 | |
| Id. Id. | $L_3$ | 69 | |
| B. Diphtérie | $L_2$ | aucun développement | en 40 jours |
| Id. Id. | $L_3$ | Id. | Id. |
| B. Koch en Souton | $L_2$ | Id. | Id. |
| Id. Id. | $L_3$ | Id. | Id. |
| B. Koch Brodo glicér. | $L_2$ | Id. | Id. |
| Id. Id. | $L_3$ | Id. | Id. |
| B. Koch Voudremer | $L_2$ | Id. | Id. |
| Id. Id. | $L_3$ | Id. | Id. |
| B. Koch Valtis et Saenz | $L_2$ | Id. | Id. |
| Id. Id. | $L_2$ | Id. | Id. |
| Id. Id. | $L_3$ | Id. | Id. |
| Id. Id. | $L_3$ | Id. | Id. |

J'ai pris le bouillon-culture, qui avait poussé à bout de 160 heures, de l'*Erlenmeyer* avec $L_3$ et j'en ai filtré 20 cmc, à travers une bougie Chamberland $L_5$, que j'ai placée dans un autre *Erlenmeyer* avec 20 cmc. de buillon stérile. La boule contenant le filtrat démeura stérile et l'*Erlenmeyer* contenant la bougie présenta un développement de B. *prodigiosum* au bout de 96 heures.

Avec le buillon-culture de *Proteus* $X_{19}$ poussé à bout de 80 heures dans l'*Erlenmeyer* avec $L_3$, j'ai institué une épreuve analogue et j'ai obtenu le développement après 72 heures, dans l'*Erlenmeyer* contenant une bougie $L_5$, tandis que la boule renfermant le filtrat démeura toujours stérile.

De ces épreuves on peut donc conclure que:

1) Le vibrion du choléra, le *staphylococcus aureus*, le *micrococcus melitensis*; le b. de l'avortement épizootique, le b. *prodigiosum*, le b. *proteus* et le b. du typhus *sont des virus migrants à travers les bougies Chamberland* $L_2$ et $L_3$;

2) Le b. du charbon hématique, le b. de la diphtérie, le b. de la tuberculose *sont des virus non migrants à travers les bougies Chamberland*;

3) Le bouillon-culture obtenu d'un virus filtré à travers une bougie poreuse exalterait — paraît-il — ce caractère migratoire, car lorsque les bouillon-cultures du b. *prodigiosum* et du b. *proteus* issus à travers la Chamberland $L_3$, respectivement à bout de 160 et de 80 heures, ont été repassés dans la Chamberland $L_5$ ils ont émigré à travers cette dernière, respectivement à bout de 96 et de 72 heures.

* * *

Je me réserve de poursuivre l'étude pour la répartition des virus les plus connus, dans les deux groupes de « virus migrant » et « non migrants » à travers les bougies poreuses.

Il est a remarquer le fait que, parmi les « non migrés » il y a précisément le b. de *Koch* pour lequel plusieurs AA. admettent, aujourd'hui, la présence d'une forme filtrante apte à regénérer, même *in vitro* (dans le milieu *Valtis* et *Saenz*) la forme bacillaire.

Etant donné leur objectivabilité facile et précise, il me semble que ces recherches méritent un contrôle et je pense que si elles seront confirmées, elles pourront avoir une valeur décisive.

Je suis en train de pratiquer des épreuves sur la pathogénicité — vis-à-vis des cobayes — des liquides culturaux (microscopiquement stériles) des *Erlenmeyers*, dans lesquels on ait plongé, pendant quatre jours, des bougies poreuses contenant des suspensions bacillaires ou une bouillie de viscères tuberculeux.

## APPENDICE.

*Appareil pour le contrôle préliminaire des bougies poreuses.* — Il est bien évident que, pour conduire cette étude sur la propriété migratoire des germes à travers les bougies poreuses, il est très important de pouvoir connaître *a priori* la valeur filtrante réelle des bougies poreuses dont on veut se servir, puisque, pendant ces épreuves, il est même impossible d'avoir recours au contrôle moyennant un bacille text (par ex, le b. *prodigiosum*) qui. — s'il est employé avec du critérium — peut nous signaler, soit même tardivement — les bougies de mauvaise qualité. (À savoir: il faut ensemencer, dans les milieux culturaux, le filtrat dans un quantitatif équivalent à celui qu'on injecte aux animaux).

Il y a une méthode que quelques expérimentateurs, même dernièrement, ont nouvellement recommandé: elle consiste dans le mesurage de la perméabilité des bougies poreuses vis-à-vis des liquides; mais, d'après mon avis, cette méthode n'est pas utile par soi-même, car, tout en nous indiquant la perméabilité totale d'une bougie, elle n'exclut pas qu'entre deux bougies ayant une portée égale, l'une puisse l'avoir atteinte à cause de la distribution régulière d'une porosité fine ,et l'autre à cause d'une grande perméabilité dans un point, le restant de la bougie étant presqu' imperméable.

Une des méthodes les plus anciennes et, d'après mon avis, la meilleure, c'est-à-dire apte à nous donner presque la vision de la porosité de tous les points d'une bougie, c'est la méthode qui consiste dans l'insufflation de l'air, sous pression, pendant que la bougie même est plongée dans un cylindre d'eau, En observant la grandeur et la fréquence des bulles d'air se détachant de la surface de la bougie, on peut inférer quel est le type de sa porosité.

Le fait d'enter la bougie directement dans la pompe foulante ou dans un cylindre avec du gaz sous pression, présente l'inconvénient que la tension du gaz dans la bougie nous reste inconnue; or le manque de cette donnée n'est pas d'importance négligeable, parce que *la perméabilité d'une bougie poreuse est en raison directe avec la pression exercée par le liquide ou par le gaz qui doit la traverser.*

Dans le but de rendre cette pression constante et susceptible d'être connue à chaque moment du contrôle, j'ai fait construire un appareil très simple et très pratique.

Il s'agit d'un soutien à la base duquel est fixée, suivant l'axe principal, une chambre cylindrique de la capacité de 5-10 litres, ayant des parois solides. Une paroi latérale porte un tuyau d'introduction, lié à un tuyau de caoutchouc pourvu de soupapes pour la pompe foulante

ou pour la bombe du gaz sous pression. À l'autre parois elle porte un tuyau a Y pour double entement; l'un pour le manomètre à mercure qui se dresse fixé sur la même base pour plus d'un mètre de hauteur et avec lequel il communique librement à l'aide d'un tuyau de caoutchouc à pression; sur l'autre est monté un tuyau de caoutchouc pour pression, muni d'une clef; au bout de ce tuyau on introduit la bougie poreuse à contrôler (pour le contrôle des bougies Chamberland cylindriques pour filtration par le vide, on introduit dans le tuyau de caoutchouc une canule métallique dont un bout est quelque peu pointu, en forme de cône et revêtu d'un manchon de caoutchouc afin de pouvoir le fourrer dans l'embouchure de la bougie poreuse et établir, de la sorte, une clôture hermétique).

Mode d'emploi de l'appareil.

Tout d'abord, en fermant la clef du tuyau qui sert pour la prise de la bougie poreuse, on obtient dans la chambre-réservoir, une certaine pression à l'aide d'une pompe foulante ou d'une bombe contenant du gaz déjà comprimé. On lit la tension au manomètre, en cm. de Hg. On s'assure qu'elle tienne parfaitement.

On introduit la bougie dans le susdit tuyau et on la déscend dans un cylindre avec de l'eau distillée, de manière à ce qu'il garde une position centrale axiale et qu'un morceau du tuyau métallique dans lequel elle est introduite, demeure complètement au dessous de l'eau.

On ouvre la clef pour transmettre la pression à la bougie et on fait compte:

1.er de la distribution, de l'étendue et de la fréquence des bulles d'air qui sortent de la bougie:

2.ème du temps qu'emploie la colonne de mercure du manomètre pour s'abaisser d'un cm., par exemple.

Mais si ces éléments sont très utiles pour juger de la valeur des bougies poreuses, le mérite particulier de cet appareil est celui de nous révéler si dans quelque bougie poreuse il y a de gros pores qui laissent passer les microbes communs; il nous indique encore si, parmi les bougies d'une valeur différente, il y a réellement une perméabilité différente sur toute la surface.

J'ai constaté, par de nombreuses épreuves déjà faites, que la pression nécessaire afin qu'un gaz puisse traverser un système de pores, est inversement proportionnelle au diamètre de ces derniers.

Je dois maintenant établir quel est le maximum de tension à laquelle un gaz (par ex, l'air), peut être contenu dans une bonne bougie poreuse,

sans que des bulles à jet rapide sortent de quelques uns de ses points; je dois encore fixer la pression nécessaire pour obtenir la sortie des petites bulles gazeuses pour chaque type de bougies. À la première recherche nous obtenons une réponse générique sur le degré d'aptitude de la bougie poreuse à retenir les germes communs visibles au microscope. À la seconde recherche nous obtenons une mesure de la perméabilité qui nous permet de constater si réellement la perméabilité différente de chaque point correspond à des bougies déclarées d'une différente valeur.

D'après les épreuves faites jusqu'ici, je puis assurer qu'en réalité la différente valeur filtrante attribuée aux différentes bougies, alors même qu'elle est vraie en ce qui concerne la valeur totale, ne l'est pas pour ce qui se rapporte aux différents points d'une bougie; de sorte que si une bougie Chamberland $L_3$ filtre plus qu'une bougie $L_5$, il y a cependant (ce qui a une grande importance) des points de la bougie $L_5$ qui ont la même perméabilité de la bougie $L_3$.

Presque toutes les bougies Chamberland (j'ai fait l'épreuve sur 60 bougies neuves, achetées chez Rastelli le mois de janvier dernier) ont de grandes perméabilités du côté émaillé et toutes ont une perméabilité supérieure dans le haut, en proximité de la partie émaillée.

L'endroit où l'on a imprimé la marque « contrôle » en noir est résulté, pour la plupart des bougies, particulièrement poreux et cela, je pense, à cause de l'encre de la marque qui contient des sels de fluor.

En travaillant avec une pression d'atmospère supérieure à la normale (à 7 cm. de Hg.) les bougies Chamberland $L_5$ restent imperméables; les bougies $L_2$ $L_3$ sont, au contraire, perméables à l'eau à la même tension, mais on recontre des perméabilité très différentes entre les bougies du même chiffre: quelques unes montrent une perméabilité fine et serrée sur toute la surface; d'autres une perméabilité régulière mais peu serrée et plus grande, d'autres ne sont perméables que dans la partie marginale de l'émail, d'autres encore, filtrent par zones et lancent des bulles irrégulières au point de vue de la largeur et de la fréquence; d'autres enfin, sont, à la même pression, presque imperméables sur toute la surface, mais dans un ou plusieurs endroits perdent de grosses et fréquentes bulles.

Pour les épreuves dont je viens de parler, j'ai pu employer moins d'un tiers des bougies dernièrement achetées et pour la plupart des bougies j'ai du appliquer le montage un peu au dessous de la partie émaillée.

Ensuite, j'ai voulu passer les mêmes bougies de l'épreuve de la perméabilité à l'air, sous pression de cm. 76 de Hg., à celle de la perméabilité à l'eau distillée par dépression de 35 de Hg., et j'ai remarqué que les rapports de la perméabilité à l'air ne correspondent pas toujours à ceux de la perméabilité à l'eau. Je citerai, par ex,, un cas extrême; entre

deux bougies poreuses, celle qui résultait, en un temps X et à la pression Y. perméable à trois volumes d'air, comparée à une autre qui dans le même temps et à la même pression résultait perméable à un seul volume d'air se montre capable de philtrer à la même dépression et dans le même temps, la moitié seulement du volume de l'eau.

Ce résultat s'appuye sur deux faits:

I.er. Beaucoup de bougies présentent à l'épreuve de la perméabilité de l'air des pertes plutôt considérables dans la partie émaillée et surtout au rebord, tandis qu'à l'épreuve de filtration par dépression la partie émaillée est exclue.

II.ème. Tandis que la perméabilité des bougies poreuses pour l'air, avec une tension de 76 cm, de Hg, plus que la normale, se revèle seulement pour les bougies et les points des bougies à pores d'une certaine largeur, la perméabilité pour l'eau aspirée avec une dépression même de 20-30 cm. de Hg, se revèle aussi pour les bougies et les points de bougies à pores très petits.

Ce qui le prouve c'est la remarque que les bougies $L_5$ qui, comme je viens de dire, restent presque complètement imperméables à l'air avec une tension de 76 cm. de Hg., sont bien perméables à l'eau aspirée avec une dépression de 20 cm. de Hg.

D'aprés les résultats exposés ci-dessus, il me semble qu'il ressort bien clairement que cet appareil, plus qu'à mesurer la perméabilité d'une bougie poreuse peut très bien nous servir à découvrir la largeur de ses pores, par l'observation de la largeur et de la fréquence des petites bulles d'air qui se détachent de sa surface, et encore mieux, en considérant la pression nécessaire à en déterminer la formation et un détachement rapide.

Les bougies de mauvaise qualité pour l'étude de l'ultra-virus, sont celles qui produisent des bulles à la tension de moins de 40 cm. de Hg.. et celles qui, à la tension de 76 cm. de Hg., produisent des bulles trés fréquentes et de diamètres différents.

A l'examen de la porosité des bougies avec cet appareil, doit suivre celui de leur perméabilité à l'eau distillée, que je fais en mesurant la quantité d'eau que chaque bougie, montée régulièrement sur la bouteille à filtration dans le vide, laisse passer pendant 5' à la dépression de 30 cm. de Hg. (la bougie étant gardée toujours pleine).

**PETRAGNANI G. – Premières recherches sur la culture des bacilles de Koch sur milieu préparé moyennant la " cire jaune ".**

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

Le fait de la présence de « cires » dans le corps des bacilles de Koch, m'a entrainé, depuis quelques temps, à étudier la façon de distribuer dans un milieu de culture une « cire », àfin de pouvoir juger de l'effet qu'elle aurait éventuellement sur le développement et sur les propriétés biologiques des bacilles cultivés.

À la suite de quelques éssais, je suis parvenu à homogéiniser opportunément la « cire jaune » dans mon « milieu lait-oeuf-fécule au vert de malachite »:

— On fait une solution chloroformique de cire d'abeilles et on l'additionne, après l'avoir chauffée à 40°, à la « colle lait-oeuf-fécule-peptone », tout en la gardant dans le bain-marie bouillant (v. préparation de mon milieu: Pour 150 cmc. de lait + 6 gr. de fécule de pommes de terre + 1 gr, de peptone + une pomme de terre coupée en morceaux, on ajoute 10 cmc. de solution chloroformique de cire = cire 3 gr. + chloroforme 50 cmc.).

On doit mêler immédiatement, moyennant une baguette de verre de façon à distribuer la solution de cire dans toute la « colle lait-oeuf fécule » et remêler pendant un quart d'heure environ, en gardant toujours le tout dans le bain-marie bouillant, jusqu'à ce que l'odeur du chloroforme soit disparu, Ensuite l'on continue comme pour la préparation du milieu sans cire: on refroidit jusqu'à 50° C.; on ajoute les oeufs; on filtre sur gaze; on ajoute encore la glycérine et le vert de malachite; enfin on place en de grandes éprouvettes qu'on doit porter dans le coagulateur à 90° C, pendant 20 minutes.

Ce milieu préparé avec la cire offre la même aspect de celui qu'on apprête sans la cire, et, en comparaison de ce dernier, il ne possède pas de plus grandes qualités pour l'isolement du bacille de Koch des matériels pathologiques, car le développement s'y effectue avec un peu de retard. De même, le pouvoir d'inhibition que le vert de malachite exerce sur les autres germes communs, résulte un peu apaisé, car lorsqu'on ensemence des crachats homogéinisés avec Na OH au 4%, pendant quelques minutes, à température ambiante, et on les néutralise á la présence de tournesol moyennant HCl au 10 ou au 20%, on obtient toujours dans le « milieu sans cire » des cultures pures, tandis que dans le « milieu avec la cire » j'ai constaté parfois des souillements.

Mais j'ai estimé que ce « milieu avec la cire » soit digne d'une étude

ultérieure, car j'ai observé que, dans les transplantations, les bacilles de Koch donnent un enduit plus crémeux que dans le milieu sans cire et que cet enduit est bien plus homogéinisable dans la solution physiologique.

Au microscope, en des préparations colorées moyennant le *Ziehl-Neelsen*, les bacilles humains cultivés dans le milieu avec cire, montrent, vis-à-vis des bacilles cultivés dans un milieu sans cire, une plus forte tendance à la granulation.

Au contraire, le B.C.G. qui, dans une semaine, pousse vigoureusement soit dans le milieu sans cire, soit dans celui préparé avec la cire, présente, dans le premier, des formes ayant de fortes granulations, tandis que dans le deuxième, les bacilles ont un protoplasma épais et uniformement acido-résistant.

Je suis en train de faire des épreuves comparatives sur la pathogénité de souches cultivées sur les deux milieux et ces épreuves se rapportent particulièrement au B.C.G. et au développement de la souche bovine.

---

RIGOBELLO G. – **Les résultats anatomo-pathologiques et bactériologiques dans les cobayes issus de mères injectées à plusieurs reprises, moyennant les bacilles tuberculeux et les filtrats de matériels tuberculeux.**

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

Tous les rechercheurs qui ont poursuivi les investigations de MM. Calmette et Valtis ont visé à démontrer qu'il existe la possibilité de déterminer chez le cobaye la tuberculose dite atypique, moyennant l'injection du filtrat de matériel tuberculeux. Cette forme n'est pas dissemblable de celle que les anatomo-pathologistes ont dénommée forme latente, et qui consiste surtout dans une hyperplasie glandulaire, accompagnée de la présence de rares bacilles de Koch. Non pas différemment M. Much tâchait de démontrer jadis, que ses formes granulaires déterminaient une tuberculose très légère. Tout récemment, M. Ninni a voulu démontrer qu'à l'aide d'injections de filtrat, pratiquées dans les glandes lymphatiques péri-trachéales, on obtient typiquement la forme de l'ultravirus de la tuberculose.

Etant donné que les expérimentateurs de l'Ecole française soutiennent que le virus trans-placentaire peut être identifié avec le virus filtrant sur bougies, tandis que de l'ensemble critique des recherches de différents AA. le virus filtrant de la tuberculose présenterait un comportement dans l'organisme qui n'est pas le comportement typique de l'é-

volution du germe tuberculeux habituellement connu, j'ai tâché de voir, au cours de mes recherches, si les animaux d'expérience présentent des altérations pouvant représenter réellement les signes d'un tableau particulier, bien distinct de celui qui est donné par le bacille de la tuberculose. Et encore j'ai voulu voir s'il est possible de transmettre ultérieurement à la déscendance, l'infection ayant les mêmes caractères bactériologiques et anatomo-pathologiques.

Pour la technique expérimentale je me suis servi des souches humaine et bovine que j'ai reçues de la Sainté Publique, et j'ai employé le matériel provenant des glandes lymphatiques de cobayes infectés moyennant ces souches, le liquide pleural et le crachat humain que je laissais autolyser à l'aide des méthodes ordinaires et dont je tirais, moyennant la précipitation avec de l'antiformine, les bacilles tuberculeux. Je me suis préoccupé de vérifier si la perte de l'acido-résistance et la réduction à des formes granulaires, obtenue par l'action des acides graisses (acide moruique, oléique et linoléique) auraient pu avoir de l'influence sur la détermination de la présence d'un virus filtrant sur bougie.

Quant à la quantité de matériel bacillaire, afin d'éviter une infection massive qui peut altérer la nature de la recherche, j'ai adopté la méthode du nombrement bacillaire, en me servant du calcul par le moyen de la cellule de Lebeuf (cellule que j'ai déjà citée dans un travail précédent) de façon à ne pas surpasser les dix germes pour cmc.

J'ai employé les bougies $L_3$ et $L_4$, à la pression de 0,40 d'atmosphère, et j'en ai contrôlé les conditions, moyennant des cultures de choléra aviaire. Les cobayes choisis ont été répartis dans les groupes suivants:

*A*) Cobayes injectés, moyennant du matériel pathologique; cobayes injectés, moyennant des bacilles provenant de l'organisme et du milieu cultural; cobayes injectés, moyennant des bacilles traités avec des acides graisses.

*B*) Groupes de cobayes, injectés analoguement, moyennant le filtrat sur bougie du même matériel.

Quatre vingts cobayes ont été injectés: une partie d'entre eux n'étaient pas encore en état de grossesse, tandis que chez une autre partie la grossesse était déjà avancée.

En général, l'allure du processus chez les cobayes infectés moyennant les bacilles, a été en rapport de la virulence du matériel.

Les examens bactériologiques et histologiques ont été pratiqués à l'aide des communes méthodes de *Ziehl-Neelsen*, de *Gram*, et aussi à à l'aide de la coloration des sections avec l'hématoxiline-éosine et *van Gieson*.

Dans le but de pratiquer l'examen systématique des cobayes fils,

nous avons sacrifié quelques unes des cobayes mères peu avant l'accouchement, quelques autres pendant la période des couches, tandis que d'autres encore ont été laissés en vie et ont accouché. Peu de cobayes, particulièrement ceux qui avaient été infectés moyennant les bacilles, ont succombé avant l'accouchement.

Les foetus de ces derniers cobayes ont été également examinés.

L'examen anatomo-pathologique macroscopique a mis en évidence que le tableau présenté par les cobayes injectés moyennant des produits de filtration, ne se différenciait que bien peu du tableau des cobayes communs normaux. Macroscopiquement on remarquait seulement la présence de glandes grossies dans la région ilaire du poumon et du mésentère, et l'on voyait, dans le foie, quelques taches de dégénération.

Quoique le matériel des cobayes tués ne présentait, à l'examen bactériologique, rien de remarquable, il fut inoculé en d'autres cobayes, mais sans donner un résultat décelable analogue. Les petits des cobayes que l'on laissa croître, montrèrent, en comparaison des petits normaux, une augmentation de poids plus modique et une sensibilité particulière aux infections intercurrentes et expérimentales.

*Examens histopathologiques.* — Les préparations histologiques du placenta ont permis de mettre en évidence seulement trois fois, dans les cobayes traités à l'aide de bacilles, des granules moindres, acido-résistants, situés à l'intérieur des macrophages; par contre, je n'ai pas constaté la présence de ces granules qui ont été cités par quelques autres AA. dont j'ai eu l'occasion de voir les préparations (Migliavacca). Les examens des organes des mères (inject. de filtrat) et des petits cobayes ont donné les résultats suivants:

*Glandes lymphatiques.* — Les glandes présentent l'aspect d'un nodule, dont les parois sont bien délimitées et entourées par une bande mince de tissus conjonctif, lâche en quelques points (parois conjonctivale incomplète). Dans le nodule on peut distinguer un stroma délicat, constitué par des cellules parfois allongées, et par des fibres conjonctivales qui s'entrelacent lâchement, à forme de réticulums; entre les réseaux du réticulum et surtout dans la partie périphérique du nodule, plusieurs éléments sont nichés qui rappellent la structure lymphocitaire et il s'y trouvent aussi des plasmazellen ayant un noyau petit et rond et un protoplasma pas abondant. Dans la partie centrale du nodule ces éléments sont un peu plus rares, de manière à faire ressortir la structure du stroma; en plus, l'on peut remarquer la présence de cellules plus volumineuses ayant un protoplasma abondant avec un noyau excentrique, dont l'aspect est histiocytaire. (Tout cela fait penser à une forme inflammatoire, à évolution chronique).

*Poumon.* — Dans le poumon on note une infiltration interstitielle parvi-cellulaire qui, en certaines régions, atteint un degré tellement remarquable, à reduire sensiblement le volume des différents alvéoles pulmonaires et de même le nombre des alvéoles remplacés par un tissus compacte. Et de même le stroma est considérablement épaissi; en certains points il y a quelques indices d'une conjonctivation; dans les alvéoles et dans l'espace inter-alvéolaire il y a absence absolue de l'exsudat leucocytaire hémorragique, tandis qu'on constate la présence de cellules d'un volume considérable et ayant une forme arrondie à type histiocytaire, tout en n'excluant pas la possibilité qu'il s'agisse de cellules hépithéliales hypertrophiques desquamées, avec une desquamation irritative d'un degré léger des épithéliums alvéolaires.

Il est intéressant de remarquer que des éléments à type lymphocytaire se réunissent en groupes pour constituer de véritables nodules lymphatiques néoformés, lesquels sont parsemés en grand nombre dans toute la surface pulmonaire et donnent la sensation de nodules inflammatoires typiques; pourtant on doit exclure qu'il s'agisse de follicules lymphatiques néoformés, en vue du manque d'un véritable centre germinatif avec caryocinèse.

Des éléments mononucléaires surtout se reunissent tout autour des vaisseaux, de façon à former de vrais manchons; avec les plasmazellen et les cellules épithélioïdes prôches aux vaisseaux, les cellules éosinophyles histioïdes constituent, elles aussi, des groupes alentour des vaisseaux. En tous cas, les cellules géantes sont absentes et il n'y a pas constitution d'éléments qui puissent donner un indice de tubercule.

*Foie.* — Le parenchyme est bien conservé; on n'observe pas d'infiltrations périvasales; en quelques points on voit une infiltration lymphocytaire diffuse, et dans certains points des petits foyers de nécrose on constate que la perte du tissu hépatique va être reparée par un tissu de granulation.

Dans le sang circulant on a remarqué des granulocytes éosinophyles très abondants.

De l'ensemble des résultats anatomo-pathologique il ressort qu'il existe un rapport avec les citations faites par d'autres AA. à propos de la tuberculose atypique (Calmette, Valtis); et M. Soli particulièrement put constater la présence de foyers infiltratifs mononucléaires et de manchons tout autour des vaisseaux, dans le poumon. Toutefois il est bon de se rappeler que ces résultats peuvent être obtenus en de différentes conditions morbides à caractère toxi-infectieux, tandis que M. Soli rapporte cette forme à celle plus atténuée de la tuberculose qui va s'éteindre spontanément. Au point de vue critique, d'après mes résultats, en consi-

dération du fait que M. Soli n'est parvenu à obtenir ni la culture ni la répétition du même tableau histopathologique moyennant la transmission expérimentale, je suis enclin à penser qu'il s'agisse d'un phénomène réactif envers les produits toxiques et, en tous cas, d'une disgrégation différente du bacille tuberculeux.

Et, de même, l'hépatite tuberculeuse ne peut pas être considérée comme un fait spécifique. En outre, suivant mes résultats, seulement un pourcentage excessivement modique des cobayes que j'ai employés a montré chez les petits la présence du bacille de Koch, tandis que la presque totalité des animaux n'a pas permis une constatation semblable; or, cette donnée ferait penser que les premiers doivent être rangés parmi les rebuts dus aux erreurs difficilement démontrables. Par contre, les seconds tendent nécessairement à nous faire éliminer l'hypothèse que les altérations histopathologique démontrées plus haut, soient imputables à l'ultra-virus tuberculeux avec ces caractéristiques que les différents rechercheurs lui ont attribué jusqu'ici. En tous cas, même si ce virus existe, en passant par toutes les modifications de formes et d'acido-résistance et de virulence présentées par M. Seppilli, il ne s'agit certainement pas du virus qui est signalé comme pouvant provoquer le tableau de nature chronique et inflammatoire que les préparations nous ont permis de constater. Tout en laissant de côté la question disputée des conditions des bougies et des facteurs différents qu'on invoque pour la conception de filtrabilité par rapport aux bougies mêmes (phénomènes d'absorption, de charge électrique), il faut remarquer qu'en réalité, le fait soutenu par divers AA. comme M. Manfredi, etc., que le passage à travers des filtres de collodion peut donner nettement le caractère de l'ultra-virus, ne donne pas des résultats complets. En effet, des altérations pareilles se présentent pour les produits de disgrégation en général et, d'ailleurs, les AA. n'ont jamais obtenu de ces éléments passés à travers les filtres de collodion, des formes qui — sur des milieux artificiels de culture — évoluent de l'ultra-virus aux formes bacillaires typiques; en plus, les AA. susmentionnés ont constaté, comme résultat final, la guérison des cobayes.

En tout cas, le problème va s'éclaircir dans le sens que, désormais, les expérimentateurs tombent d'accord par rapport à ces tableaux de tuberculose atypique, c'est-à-dire qu'ils rejettent les formes à type disséminatif à pourcentage très élevés, que certains rechercheurs avaient attribué — probablement par la suite de quelques erreurs — à l'ultra-virus de la tuberculose.

Or, si on veut mettre la question au point, on doit admettre que, d'aprés les résultat que jai obtenu de ces prétendus virus filtrants, la présence de cellules épithélioïdes et d'éléments histioïdes, accompagnée

de l'absence de cellules géantes, et le manque de tout ce qui pourrait être l'indice de la formation du tubercule, constituent un fait assez intéressant. En d'autres mots, ils manquent les suites d'un processus tuberculosigène et de même les effets d'un pouvoir tubercoligène, tandis que les résultats histo-pathologiques donnent encore l'accès à la discussion sur un virus atténué et apathogène que, toutefois, l'on ne reussit pas à reproduire en série, à cause des résistances des organismes infectés qui parviennent à le vaincre.

Cela posé, il est plus facile de comprendre encore que toutes les altérations qui frappent le système lymphocytaire et réticulum-endothélial par suite d'une inflammation à type chronique soient telles à déterminer un certain degré d'anergie vis-à-vis de la réaction à la tuberculine, ainsi que quelques AA. l'ont constaté chez les cobayes atteints de l'ultravirus tuberculeux.

Pour en conclure, nous dirons donc que les épreuves culturales ou de revirulentation du matériel pathologique des cobayes issus de mères tuberculeuses ou injectées moyennant des filtrats de produits tuberculeux, ont été négatives. Les resultats histopathologiques donnent le tableau bien net d'un type inflammatoire chronique, essentiellement différent du type tuberculeux que nous connaissons déjà pour les petits des cobayes et pour les mères inoculées moyennant le filtrat.

## BIBLIOGRAPHIE.

*Migliavacca A.*, « Boll. Soc. Medico-Chirurgica, Pavia 1929.

*Seppilli A.* et *Ravasini G.*, « Ricerca degli elementi filtrabili del virus tubercolare col metodo della coltivazione dei tessuti in vitro ». Boll. Ist. Sieroterapico Milanese, Luglio 1930.

*Soli Ugo*, « Alterazioni anatomiche nelle cavie trattate con prodotto di filtrazione di materiale tubercolare umano ». Riv. Sanit. Sicil., N. 4, 1931.

*Manfredi Luigi*, « Virus tubercolare filtrabile e tubercolosi atipica sperimentale ». Riv. Sanit. Sicil., N. 4, 1931.

---

## BONANNO A. M. – **L'influence de l'alimentation alcalosique et acidosique sur la tuberculose expérimentale.**

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

Dans la thérapie de certaines maladies (tuberculose, épilepsie, cardiopathies) on a introduit tout récemment, des régimes spéciaux, dans le but d'influer sur l'échange humoral, et surtout, sur l'équilibre minéral. En partant de ces interventions thérapeutiques qui, jusqu'ici, se sont bornées à l'observation clinique, j'ai estimé intéressant d'étudier expé-

rimentalement en des animaux de laboratoire l'influence qu'une alimentation alcalosique et acidosique exerce sur l'échange respiratoire, sur le métabolisme des hydrates de carbone, sur l'échange du calcium et du potassium et, par rapport à la consolidation des fractures expérimentales, sur la guérison des blessures expérimentales, sur les éléments morphologiques du sang et sur la viscosité et la sédimentation des hématies.

Dans le champ immuno-biologique, j'ai essayé l'influence des régimes dont il est question, sur la tuberculose expérimentale du cobaye, sur l'anaphylaxie due au sérum de cheval, sur le pouvoir complémentaire, phagocitaire, opsonique, bactériolytique du sang et sur la formation des anticorps, et enfin sur l'influence éventuelle vis-à-vis du bloc de S.R.E.

L'influence de ces régimes était contrôlée à l'aide du dosage de la réserve alcaline et du Ph dans le sang, et de l'ammoniaque et du Ph dans les urines.

Les résultats de ces recherches seront relatés bientôt; pour le moment je me borne à communiquer les résultats que j'ai obtenu en injectant, par la voie endo-péritonéale, une dose correspondante au mycobactérium du tubercule provenant de la culture d'un crachat tuberculeux sur milieu de Petroff-Petragnani, à des lots de cobayes préalablement soumis pendant dix jours au régime susdît, régime qui continua encore après l'injection. J'ai donc pu observer qu'à partir du quinzième jour après l'injection, la mortalité a fait son début dans le groupe acidosique des cobayes, et, peu de temps aprés, dans le groupe alcalosique aussi, de sorte qu'au bout de 25 jours après l'injection tous les cobayes du groupe acidosique avaient succombé, tandis que les animaux appartenant au groupe alcalosique ont succombé dans les 40 jours consécutifs à l'injection. Dans le groupe des contrôles on n'a pas eu, pendant cette période de temps, aucun cas léthal. Chez la plupart des cobayes, les lésions étaient limitées au péritoine et au mésentére; il s'agissait de lésions du type hyperplasique et caséeux, accompagnées d'un réssentiment des glandes inguinales et, chez quelques animaux, de foyers de caséose dans le poumon.

La dose égale de mycobacterium que l'on a injectée, le même milieu où les animaux ont vecu, la survivance pendant un long délai de temps des animaux sains soumis aux régimes susmentionnés, nous consentent d'assigner aux modifications humorales provoquées par les différentes alimentations le divers comportement que chaque lot de cobayes a démontré.

L'influence qu'un régime alcalosique ou acidosique peut avoir dans la tuberculose expérimentale trouve son appui en d'autres importants résultats obtenus dans les autres groupes de recherches dont j'ai parlé plus haut.

BOGETTI M. – **Expériences de disassociation bactérique sur le groupe Castellanus-Cerruti 1930.**

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

Le dogme de la typicité de l'aspect des colonies, de la forme des éléments qui concourent à former une espéce bacterique particulière, a perdu dans ces dernières années une grande partie de sa valeur absolue et primitive.

Tout ce qui s'éloigne de ce qu'il est convenu de regarder comme normal, pour une espèce déterminée de microbes, ne vient pas aussitôt attribué à des causes dégénératives, involutives, ou, pis encore, de contamination; mais est étudié et décrit comme « variation », modification ou, selon la conception plus moderne, comme représentant des phases de la « disassociation microbienne ».

Sous cette denomination, d'après Hadley et autres AA., on groupe les procés de transformation qui se produisent dans les cultures microbiennes « in vitro » ou « in vivo », et à travers lesquels on arrive à de nouveaux aspects culturaux, durables ou changeants, différents ou réversibles.

Les travaux de Arkwright ont démontré, que, p. ex., dans le groupe typhus-coli on peut distinguer, dans chaque espèce, deux types principaux de colonies. L'une appelée type « S », ronde, régulière, lisse; l'autre, type « R », ayant les bords irréguliers, déchiquetés et la surface rugueuse. Les colonies du type « S » donnent facilement lieu à des colonies du type « R », tandis que celles-ci gardent d'une façon durable leurs propres caracteristiques. A ces différences morphologiques, répondent ensuite des différences biologiques, sérologiques, etc.

Aux nomenclatures introduites par Arkwright et acceptées par la plupart des autres AA. — surtout Anglo-Saxons — viennent s'en ajouter d'autres, d'Auteurs différents, qui ont cependant, au fond, la même signification.

Nous avons ainsi les colonies « flach » e « rund », celles « flach » et « gewölbt », de certains AA. allemands qui, au fond, caractérisent le même phénomène de dissociation microbienne, sous des noms différents.

Mes recherches sur la dissociation bactérique eurent pour objet le groupe de germes intestinaux, aérobes, récemment réunis par Cerruti dans le genre Castellanus. Ce groupe comprend, à côté d'espèces saprophites, des espèces pathogènes pour l'homme, autrement connues comme des bacilles méta-dysentériques, décrits et isolés par Castellani à Ceylon, vers 1905.

Les caractères génériques plus importants sont les suivants: bactères aérobes non sporigènes, non capsulés, faisant fermenter le sucre avec production d'acides et non de gaz, acidifiant surtout le lactose, et souvent faisant coaguler lentement le lait; capables de produire chez l'homme colite dysentérique ou non, avec ou sans fièvre.

Ayant a ma disposition les collections de souches appartenant au genre Castellanus de l'Institut d'Hygiène de Turin, constitué par 20 souches diverses, j'ai cherché à mettre en évidence dans quelques une d'elles des formes de dissociation.

Etant parti de l'agar et des cultures en bouillon après 1-2-3 semaines de séjour dans le thermostate, je pratiquai des isolations sur plateaux d'agar lactosé et tornasolé, d'agar Lévine (agar lactosé a l'1%, éosine et bleu de méthylène). Je me suis également servi, comme agent dissociant, de deux principes lytiques anti-Shiga, d'origine diverse, qui se sont démontrés assez actifs sur de nombreuses souches de b. méta-dysentériques.

Après plusieurs tentatives j'ai réussi, pour certaines souches, à obtenir sur plaque des colonies isolées, rondes, à marges nettes, à surface lisse, légèrement convexe, opaques ou transparentes, à lumière incidente; et aussi des colonies isolées, aplaties, à bords irrégulièrs et découpés, genre « feuille de vigne », à surface de même irregulière, rugueuse, transparente, à lumière incidente. Les colonies de ce second type se présentaient beaucoup moins nombreuses que celles du premier type.

J'ai lieu de retenir que ces dernières (1.er type) puissent s'identifier dans le type « S », et les autres dans le type « R » de Arkwright.

Examinées à la goutte pendante, soit les colonies « S » que les colonies « R » apparaissent constituées par des b. courts, trapus, animés par d'alertes mouvements browniens.

A l'examen des préparations colorées respectives, l'identité morphologique des germes appartenants aux deux différents types de colonies est confirmée: les deux sont composés de b. courts, aux extrémités arrondies, gram-négatifs.

J'exécutai une première série d'essais d'agglutination avec deux sérums immunisés, obtenus par des lapins vaccinés respectivement avec L. Ceyl. A. et L. Ceyl. B. st. RR.

Soit la variété « S » que la « R » gardèrent en face des deux sérums la même attitude. Une deuxième série d'essais exécutée avec 4 sérums, également obtenus des lapins inoculés avec souches dissociées, produisit des résultats analogues.

J'ai enfin soumis la série entière des souches à ma disposition, dissociées ou non, à l'essai d'agglutination aspécifique, exécuté, avec l'acide lactique, et par ce moyen encore je ne constatai pas de différence nette entre la variété « S » et la variété « R ».

Les deux principes lytiques à ma disposition agirent indifféremment soit sur la variété « S » soit sur la variété « R » des souches dissociées par moi-même.

Tout considéré, je ne puis remarquer que de légères différences quantitatives entre l'attitude des types « S » et « R » de bacilles appartenant au groupe « Castellanus », vis-à-vis des sérums agglutinants respectifs, de l'essai d'agglutination aspécifique avec l'acide lactique, et du phénomène de l'usure bacterique.

*Institut d'Hygienè de l'Université de Turin.*

---

CERUTI G. – **Equilibre et défenses immunitaires dans l'infection expérimentale par le staphylocoque.**

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

Le sujet de ces recherches est l'étude des réactions humorales et histologique des organes et des tissus (sang, cerveau, foie, rate, rein, muscle), provoquées par l'infection expérimentale avec des germes de staphylocoque. Les expériences ont été faites sur des lapins, qui furent sacrifiés à différents intervalles — 24 heures, 38 h., 47 h, 119 h, 167 h — après l'inoculation de la suspension des staphylocoques. La souche des germes fut choisie parmi celles non trop virulentes, de façon à ce que l'animal pouvait résister à l'infection. Voici les recherches qu'on a fait:

Etudes de la température de l'animal.

Modifications de la formule leucocytaire pendant les différentes périodes de la maladie.

Distribution des germes dans une quantité fixe de sang.

Distribution des germes dans les différents organes:

Pouvoir bactéricide du suc des différents organes, vers la même souche de staphylocoque;

Index opsonique du suc de ces organes;

Index opsonique du sérum de sang.

Pouvoir d'agglutination du sérum de sang vers les staphylocoques.

Dosage des lipoïdes avec la méthode à la saponine.

Enfin on fit aussi des recherches histologiques, avec les méthodes de coloration habituelles et avec les méthodes de Pappenheim-Unna.

Toutes ces recherches m'ont permis de faire les observations suivantes, ayant un caractère géneral.

Aprés un laps de temps de 24-48 heures, tous les systèmes de défense réagissent synchroniquement; les capacités réactives de la rate

sont les plus prononcées. Le nombre des germes observés dans les organes est petit pour le cerveau et pour les muscles, tandis que ces germes sont présents en grand nombre dans le rein et le foie c'est à dire dans les organes émonctoires.

Après cette période les germes présents dans les organes diminuent.

Les pouvoirs de défense de l'organisme ont une valeur *maxima* lorsque les germes diminuent et disparaissent.

Les réactions sont précoces et il semble qu'elles précèdent celles humorales.

Il semble qu'il se produisent aussi des altérations histologiques et lipoïdiques, qui provoqueraient des variations correspondantes du contenu lipoïdique du sang.

---

DOLFINI G. et CASTELLI D. – **Sur l'inoculation de la leucocytogrégarine aux rats splénectomisés et colorés vitalement.**

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

Les hémogrégarines sont des parasites du sang que l'on trouve souvent dans les animaux à sang froid et dans les oiseaux, tandis qu'ils sont plutôt rares dans les mammifères. Nous connaissons 19 espèces de mammifères porteurs d'hémogrégarines (chien, rat d'égout, rat blanc, souris, écureuil, lièvre, lapin, chacal, boeuf, etc.). La bibliographie cite cinq cas d'hémogrégarine chez l'homme (Krempf Roubaud, Sergent et ses collab., Noc, Nattan-Larver); ces cas n'ont pas été tous reconnus comme tels, quelques uns même ont été nettement niés (Wenjon). Un fait, en tous cas, est sûr et c'est que les hémogrégarines n'ont aucune importance pratique pour la pathologie humaine: mais on peut s'en servir avec succès dans les recherches pour étudier plusieurs problèmes de physio-pathologie. Les hèmogrégarines possèdent en effet certaines propriétés biologiques caractéristiques. Par exemple nous savons que tandis que la plus grande partie des hémogrégarines est parasite des globules rouges, parmi celles des mammifères il y en a qui se fixent par élection sur les monocytes. Ces dernières appartiennent au genre « Leucocytogrégarina » (Leucocytozoon pour d'autres AA.), parmi lesquelles se trouve la « Leucocytogregarina ratti » (Adie 1906), sur laquelle nous avons faites les recherches dont nous parlons ici.

Ce parasite a été observé sur les rats d'égout (*Mus Decumanus*) en différentes parties du monde (Inde, Egypte, Australie, Japon, Portugal, Iles Azorres, Brésil, Tunisie). En Italie Monastra-Abate ne l'a

que rarement observé (4 fois sur 63), tandis que Poggi le signale dans le 50% des cas. Ce fait est évidemment dû à l'existance de petits foyers endémiques. En général on pense qu'il n'est pas très fréquent. Nous ne l'avons observé qu'une fois sur 20 rats d'égout.

Dans le sang coloré par la méthode May-Grünwald-Giemsa, le parasite se trouve rarement libre dans le plasma: généralment il est à l'intérieur des gros mononucléaires et des formes de passage, et possède une forme ellyptique à extrémités arrondies, avec des dimensions de 12-15 $\mu \times 46\ \mu$. On ne trouve en général, qu'un seul leucocytozoaire pour chaque cellule et rarement deux. Il présente un noyau avec la chromatine à blocs, à petits grains où à filaments, peu nombreux, qui se colore en général avec une nuance légèrement un peu différente de celle du noyau du monocyte. Le protoplasme prend une couleur bleue pâle, et il est souvent vacuolisé ou bien il présente des granulations basophyles (en cas exceptionnels, eosinophyles). Le noyau se trouve en général au milieu du corps du parasite et rarement à l'une des extrémités. Notre rat présentait une forte monocytose, et la quantité de parasites fixés sur les monocytes était très grande (jusqu'au 70%). On pense que le leucocytogrégarine a généralement un pouvoir pathogène peu prononcé. La transmission de rat à rat a été obtenue expérimentalement pour la première fois par Miller en faisant ingérer un acare fonctionnant comme hôte intermédiaire. L'inoculation directe de rat à rat n'a pas donné de bons resultats. Kusama, Kasas, et Kobayashi ont obtenu des résultats négatifs en inoculant à des rats sains le sang de rats infectés: ces AA. ont provoqué au contraire une légere infection en inoculant une émulsion de foie.

Franchini et Poggi ont traités, avec du sang et avec un mélange de foie, de rate et de poumon de « mus decumanus », des rats sains, des chiens, et des souris: les résultats ont toujours été négatifs.

Vu que toutes ces recherches étaient négatives, nous avons étudiés les effets de l'inoculation chez des rats dont les pouvoirs de défense avaient été affaiblis par la splénectomie et par la coloration vitale.

* * *

On s'est servi de la splénectomie et de l'inoculation vitale de couleurs acides, de colloïdes, et de suspensions granulaires, c'est à dire des substances qui ont la propriété de déposer dans les cellules du S.R.E., pour étudier expérimentalement les différentes infections bactériennes et protozoaires.

Les résultats de ces recherches ne sont pas sans importance car ils nous ont permi d'étendre nos connaissances sur les processus immuni-

taires, sur la chémiothérapie en genéral, et sur la pathogénèse de plusieurs infections. Ces recherches ont été faites surtout pour étudier la physiopathologie du S.R.E., considéré comme le centre des phénomènes immunitaires de nature humorale et cellulaire.

Il n'est pas possible de citer ici la grande quantité de faits que ces recherches ont mis en évidence, et toutes les conclusions que l'on peut en déduire. Nous avons observé en tous cas, que dans les animaux splénectomisés ou dans ceux qui présentaient les endothéliums réticulaires en état de granuloplexie (« Speicherung » des Allemands), les pouvoirs de défense de l'organisme diminuent d'une façon plus ou moins marquée par rapport à plusieurs infections: la production des anticorps est empêchée, l'infection de latente et chronique qu'elle était, devient aigüe et évidente, sa transmissibilité est augmentée, ou bien les effets de la chémiothérapie se trouvent compromis.

Parmi les infections protozoaires étudiées avec de bons résultats, sous ce point de vue, nous rappelons celle produite par les spirochètes, par les trypanosomes, les plasmodes, les pyroplasmes, les babesies (Kritschewski et ses collaborateurs, Jungeblut, Feldt, Seiffert, Pentschew, Sergent, Donatien, Parrot et Lestosquard, etc.).

Mais il nous semble que des recherches analogues sur les hémogrégarines nous font défaut: parmi ces hémoprotozoaires il y en a, toutefois, de ceux (comme la « Leucocytogregarina ratti ») qui se localisent par éléction sur les monocytes du sang et qui se reproduisent organiquement dans le foie, dans la rate, et dans la moelle des os, qui sont les districts principaux du S.R.E. Pour ces raisons, lorsqu'en faisant d'autres recherches sur le sang du « mus decumanus », nous avons trouvé des animaux infectés par la « Leucocytogregarina », il nous a semblé bon de faire des recherches pour étudier les questions suivantes.

1) L'influence de la splénectomie et de la coloration vitale (seules on associées) sur le cours de l'infection produite par la (Leucocytogregarina ratti ».

2) L'essai hématologique des animaux infectés et soumis à la coloration vitale faite en rapport avec la considération que des monocytes peuvent se charger de grains de couleurs, surtout après une coloration vitale intense et prolongée.

3) L'essai histologique des animaux infectés et soumis à la coloration vitale en tenant surtout compte de la rate, du foie, et de la moelle des os.

4) La transmission de l'infection à des rats soumis à la coloration vitale et à la splénectomie faites pour diminuer les pouvoir de défense de ces animaux.

Pour faire toutes ces recherches il était nécessaire d'avoir à disposition un gran nombre d'animaux infectés. Nous avonc donc logés, avec le rat infecté, dans la même cage, d'autre rats d'égout en espérant qu'ils se seraient aussi infectés. Mais après 15 jours ils étaient encore parfaitement sains. Le rat infecté, entre temps, avait toujours l'aspect souffrant et une anémie assez prononcée, et avait considérablement empiré: nous decidâmes alors d'essayer de faire la transmission par inoculation.

Deux rats sauvages furent soumis à la splénectomie, 2 à la coloration vitale avec du tripanblau (1% en solution physiologique, 2 cc. par voie hypodermiques) et 2 autres enfin aux deux traitements en même temps: 4 animaux qui n'avaient subi aucun traitement furent inoculés comme contrôles. Plusieurs examens nous avaient permis d'observer qu'aucun de ces animaux ne présentait des grégarines dans le sang périphérique.

Comme matériel d'inoculation nous avons choisi la rate, car c'est l'organe où l'on trouve les formes définitives du parasite, et celles en scission agamique, et il pouvait fournir une quantité de matériel suffisante pour inoculer les 10 animaux.

La rate enlevée aseptiquement a été triturée — toujours aseptiquement — avec du sable, dans un mortier d'agate et on en fit ensuite une émulsion avec de la solution physiologique. Cette émulsion, filtrée, nous servit pour inoculer sous la peau de l'abdomen, tous nos rats. Le rat infecté, et déjà très malade, mourut la nuit après la splénectomie; on le trouva le matin successif (presque complètement dévoré par ses deux compagnons de cage). Ce fait ne nous a pas permi de continuer l'étude histologique systèmatique des organes, comme nous en avions l'intention, mais il nous a été possible de prélever la moelle de plusieurs des os longs, de la triturer et de l'inoculer — par voie sous cutanée — aux rats qui le jours avant avaient été traités avec l'émulsion de la rate.

Deux et quatre jours après la première inoculation, les deux rats qui avaient subi la coloration vitale et ceux qui avaient été colorés et splénectomisés, furent nouvellemen traités avec un cc. de solution de tripanblau.

Tous ces animaux, après l'inoculation, ont continué à se porter très bien. L'examen du sang pour la recherche de l'hemogrégarine fut fait après 3, 7, 16, 16 et 62 jours; les résultats furent tous négatifs. Au 65.éme jours deux rats moururent: un des animaux, qui avait subi la splénectomie, présentait un dégeneration grasse du foie très marquée et l'autre, auquel on avait pratiqué la coloration vitale, avait succombé à cause d'un phlegmon à la queue, produit par les amputations que l'on avait faites pour lui prélever du sang.

Les autres rats inoculés deux mois après l'injection, sont toujours en bonne santé.

On examina plusieurs fois le sang des deux rats qui avaient dévoré

l'animal infecté: les résultats furent toujours négatifs. Il semble donc que l'infection ne peut pas être transmise par voie gastro-entherique.

Nos recherches démontrent que la splénectomie et la coloration vitale, même associeés, ne rendent point les rats réceptifs à l'action directe de la leucocytogrégarine.

Nous ne prétendons pas d'avoir dit le dernier mot sur l'étude des rapports entre la leucocytogrégarine et le S.R.E. Il faudra continuer ces recherches; c'est ce que nous avons l'intention de faire à peine nous pourrons avoir a notre disposition d'autres rats porteurs de leucocytogrégarines.

---

OTTOLENGHI R. – **Recherches expérimentales sur le comportement des germes dans la cavité de la pulpe des dents de chien.** (I.ère Note: *Streptocoques et staphylocoques*).

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

L'A. expose les résultats des recherches faites dans le but d'étudier le comportement des germes pyogènes introduits dans la cavité de la pulpe des dents de chien.

Les germes qui ont été examinés appartiennent à des souches de staphylocoque pyogène « aureus » et à des souches de germes pathogènes isolés depuis peu de temps sur des foyers de maladie.

La tecnique dont l'A. s'est servi a été la suivante.

Après avoir soulevé la lèvre supérieure du chien, on provoque l'anesthésie para-apicale des dents canines supérieures. de droit et de gauche, avec une solution de tutocaine à l'1 % on de percaine au 2 %º. L'anesthesie est toujours efficace et suffit pour toute l'opération. Après avoir isolé soigneusement la dent, et après l'avoir lavée avec de l'alcool, on pénétre rapidement, avec un perçoir rond monté sur un trépan électrique, dans la cavité de la pulpe de la dent canine en suivant une direction oblique en correspondance du collet; la cavité est assez grande même chez des animaux adultes.

On enlève systématiquement la pulpe coronale et celle de la racine de la dent canine de droite en se servant d'un gros tire-nerf: à gauche on tâche d'épargner la pulpe le plus possible.

Plusieurs difficultés d'ordre technique nous empêchent de déposer dans la cavité de la pulpe une certaine quantité de germes pris directement des tubes à culture. On doit donc déposer la culture en se servant de petits amas de ouate, ayant un diamètre de 2 mm. à peu près, que l'on brûle à la flamme avant de s'en servir. On ferme ensuite rapidement

la cavité de la dent avec du ciment à l'oxyphosphate de zinc, en interposant un peu de ouate stérile pour que la chaleur du ciment qui durçit n'ait aucune influence sur la vitalité des germes.

Après un certain temps on ouvre de nouveau la cavité avec un perçoir, on extrait l'amas de ouate sans difficulté, et l'on s'en sert pour semer les contrôles.

La première série d'expériences fut faite sur des lapins: mais on laissa ensuite de côté ces animaux à cause de plusieurs difficultés d'ordre technique; les lapins, en effet, ont des molaires petits, composés, et la pulpe en est filiforme: les dents incisives et les canines ne peuvent pas servir car ce sont des dents à accroissement continuel.

Le choix tomba donc sur les chiens car ces animaux ont des dents avec la cavité de la pulpe plutôt grande, facilement accessible, ce qui permet de fairé les opérations dans un ambiant stérile.

* * *

Ces recherches ont permis d'observer qu'en certains cas les germes inoculés provoquaient des abcès para dentaires, desquels, même quelque temps après (30-40 jours) l'opération, on pouvait isoler, en cultures pures, les germes qui avaient servi pour le traitement.

Lorsqu'aucun abcès ne s'était produit, les germes succombaient plus facilement; les souches de staphylocoques, surtout, avaient une vitalité trés courte.

L'A. n'a jamais observé que le processus morbide ait gagné les autres parties de l'organisme.

Les hémocultures, qui furent faites à différents intervalles de temps, ont toujours donné des résultats négatifs.

---

GIORELLI G. – **Recherches expérimentales sur le comportement des germes dans la cavité de la pulpe des dents de chien.**

(I.ère Note: *Flore associée de streptocoques pyogènes et de ferments lactiques*).

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

L'A. s'est proposé d'étudier le comportement des pyogènes associés aux ferments lactiques dans la cavité de la pulpe des dents de chien.

La technique dont il s'est servi a été la suivante. On soulève la lèvre supérieure du chien, et avec une solution de tutocaine à l'1% ou bien avec de la percaine au 2‰, on lui pratique l'anesthésie para-apicale des

dents canines supérieures. Cette anesthésie est toujours efficace et suffit pour toute l'expérience. Après avoir soigneusement isolé la dent, et après l'avoir lavée avec de l'alcool, on pénètre rapidement avec un perçoir rond, monté sur un trépan électrique, dans la cavité de la pulpe de la dent canine en correspondance du collet et en suivant une direction oblique.

La cavité, même chez les animaux adultes est toujours assez vaste. On enlève systématiquement, dans la dent canine de droite, la pulpe coronale et celle de la racine en se servant d'un tire-nerfs commun, plutôt gros: à gauche on tâche d'épargner le plus possible l'integrité de la pulpe. Plusieurs difficultés d'ordre technique empèchent d'introduire dans la cavité de la pulpe une certaine quantité de culture prélevée directement des éprouvettes. On est donc obligé d'introduire la même quantité de culture avec l'aide de petits amas d'ouate ayant un diamètre de 2 mm. à peu prés; ces amas doivent être brulés à la flamme.

Immédiatement après l'introduction des germes on ferme la dent avec du ciment à l'oxyphosphate de zinc, en ayant soin d'interposer une couche d'ouate stérile pour que la chaleur du ciment qui durçit n'ait aucune action sur la vitalité des germes. Après un certain temps on ouvre la cavité avec un perçoir, on extrait sans difficultés la ouate et on s'en sert pour faire les cultures des contrôles.

Une première série d'expériences fut faite sur des lapins: ensuite on abandonna cette technique car la cavité des molaires de ces animaux est petite, composée et filiforme: on ne peut se servir des dents incisives et des canines car leur accroissement est continuel. On s'est donc servi des chiens car ces animaux ont une grande cavité pulpaire, facilement accessible et permettant ainsi des opérations stériles.

* * *

L'ensemble des résultats fournis par ces expériences nous montre que le streptocoque vit dans la cavité de la pulpe pendant 15-20 jours et même de plus lorsqu'il se forme un abcès paradental.

Les ferments lactiques (on s'est servi de différentes souches de *bacterium bulgaricum*) vivent dans la cavité de la pulpe pendant une période très longue (30-40 jours).

En inoculant les deux germes en même temps, le streptocoque meurt rapidement, tandis que le ferment lactique continue à vivre dans la cavité.

*Inst. de bact. et d'immunol. de l'Université Royale de Turin. - Inst. Sup. Royal de Médicine Vétérinaire - Clinique Médicale.*

CASOTTI L. – **Recherches expérimentales sur le comportement des germes dans la cavité de la pulpe des dents de chien.**

(II.ème Note: *Bacterium tussis convulsivae de Bordet-Gengou, Bacterium prodigiosum, Bacterium pyocyaneum*).

**(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

L'A. a étudié le comportement des germes non pathogènes pour le chien dans la cavité de la pulpe des dents de cet animal; il s'est servi de différentes souches de *Bacterium de Bordet-Gengou*, de *Bacterium prodigiosum* et de *Bacterium pyocyaneum*.

La technique dont on s'est servi a été la suivante.:

On soulevait la lèvre supérieure du chien et l'on pratiquait l'anestésie parapicale des dents canines supérieures, de droite et de gauche, en se servant d'une solution de tutocaine à l'1% ou d'une solution de percaine au 2‰.

L'anesthésie a toujours été efficace et suffisante pour toute la durée de l'expérience. Après avoir soigneusement isolé la dent et après l'avoir lavée avec de l'alcool, on pénètre rapidement, avec un perçoir rond monté sur un trépan électrique, dans la cavité de la pulpe de la dent canine, en correspondance du collet et en suivant une direction oblique: la cavité est assez vaste, même chez des animaux adultes. On enléve systèmatiquement dans la dent canine de droite la pulpe de la couronne et celle de la racine en se servant d'un gros tire-nerfs commun: à gauche on tâche d'épargner le plus possible la pulpe de la dent. Plusieurs difficultés techniques empêchent d'introduire directement dans la cavité en question une certaine quantité de culture prise directement dans les éprouvettes: on doit donc déposer cette même quantité de germes en se servant de petits amas de ouate du diamètre de 2 mm. à peu près, amas que l'on brûle précédemment à la flamme.

On ferme ensuite la cavité de la dent avec du ciment à l'oxyphosphate de zinc, en interposant une petite couche de ouate stérile pour empêcher que la chaleur développée par le ciment qui durçit nuise à la vitalité des germes. Après un certain temps on ouvre la cavité avec un perçoir, et on enlève l'amas de ouate dont on se sert pour les semences des contrôles. La première série d'expériences fut faite sur des lapins, mais on dut ensuite laisser de côté ces animaux cas ils ont des dents molaires trop petites, à structure composée, avec la cavité de la pulpe filiforme: on ne peut se servir des incisives et des canines car ces dents

sont à accroissement continuel. On s'est donc servi de chiens car ces animaux ont la cavité de la pulpe plutôt grande, et facilement accessible; les opérations peuvent, en consequence être faites dans un ambiant stérile.

* * *

Ces recherches ont permit d'observer que tous ces germes vivent pendant un temp assez long: 15-20 jours dans la cavité de la pulpe des dents.

Les souches du *pyocyaneum* et du *prodigiosum* n'ont donné lieu à aucune manifestation pathologique.

Les souches du *Bordet* ont produit au contraire la suppuration de la pulpe dans la dent où on l'avait laissée intacte.

*Inst. de Bact. et d'Immunol. de l'Université Royale de Turin. - Inst. Sup. Royal de Médicine Vétérinaire - Clinique Médicale.*

**Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.**